

ARCHIV  
FÜR  
MIKROBIOLOGIE

ZEITSCHRIFT FÜR DIE ERFORSCHUNG  
DER PFLANZLICHEN MIKROORGANISMEN

BEGRÜNDET VON

J. BEHRENS F. BOAS A. RIPPEL

HERAUSGEGEBEN VON

A. RIPPEL-BALDES UND R. HARDER  
GÖTTINGEN

16. BAND · 1. HEFT

MIT 35 TEXTABBILDUNGEN

(ABGESCHLOSSEN AM 18. MAI 1951)



BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG  
SPRINGER-VERLAG

1951

Per.  
QR 1  
Ar 25

Arch.  
Mikrobiol.

Das

**Archiv für Mikrobiologie**

steht Originalarbeiten und Sammelreferaten aus dem Gesamtgebiet der pflanzlichen Mikroorganismen offen. Arbeiten, die nur praktischen Zwecken dienen, scheiden aus, während im übrigen alle wissenschaftlichen Fragen aus „reinen“ und „angewandten“ Gebieten berücksichtigt werden.

Das „Archiv“ erscheint nach Maßgabe des eingehenden Materials. Der Preis des Bandes beträgt DM 96.—.

Der Autor erhält einen Unkostenersatz von DM 20.— für den 16seitigen Druckbogen, jedoch im Höchstfalle DM 30.— für eine Arbeit. Sammelreferate werden mit DM 40.— für den Druckbogen honoriert.

Es wird ausdrücklich darauf aufmerksam gemacht, daß mit der Annahme des Manuskriptes und seiner Veröffentlichung durch den Verlag das ausschließliche Verlagsrecht für alle Sprachen und Länder an den Verlag übergeht, und zwar bis zum 31. Dezember desjenigen Kalenderjahres, das auf das Jahr des Erscheinens folgt. Hieraus ergibt sich, daß grundsätzlich nur Arbeiten angenommen werden können, die vorher weder im Inland noch im Ausland veröffentlicht worden sind, und die auch nachträglich nicht anderweitig zu veröffentlichen der Autor sich verpflichtet.

Die Mitarbeiter erhalten von ihren Arbeiten 75 Sonderdrucke unentgeltlich.

**Alle Manuskripte und Anfragen sind an einen der beiden Herausgeber zu richten**

**Prof. Dr. A. Rippel-Baldes, Göttingen, Institut für Mikrobiologie, Götterstr. 16,**

**Prof. Dr. R. Harder, Göttingen, Botanische Anstalten, Nikolausberger Weg 18.**

**Springer-Verlag**

Berlin Göttingen Heidelberg

**Vertriebsvertretung im Ausland:**

**Lange, Maxwell & Springer Ltd., 41-45 Neal Street, London W. C. 2**

16. Band

**Inhaltsverzeichnis.**

1. Heft

Seite

PRINGSHEIM, E. G., Die Sammlung von Algen-, Flagellaten- und Moos-	
kulturen am Botanischen Institut der Universität Cambridge . . . . .	1
PRINGSHEIM, E. G., Über farblose Diatomeen . . . . .	18
GAVEL, L. VON, Zum Problem der aktivierenden Wirkung subletaler Hitze	
auf Bakteriensporen. Mit 7 Textabbildungen . . . . .	28
SWART-FÜCHTBAUER, HERTA, Die Verbreitung farbstoffausscheidender Bak-	
terien im Süßwasser . . . . .	40
STAPP, C., Zur Frage der Bindung atmosphärischen Stickstoffs durch haut-	
bildende Hefen. Mit 1 Textabbildung . . . . .	48
GERDES, GERTRUD, Änderungen im Aneuringehalt von Algen (physiologischer	
Zustand, Licht-Dunkelwechsel). Mit 17 Textabbildungen . . . . .	55
KOCH, WULF, Historisches zum Vorkommen der Rotalge <i>Trailiella intricata</i>	
(Batters) bei Helgoland . . . . .	78
SCHMIDLE, ALFRED, Die Tagesperiodizität der asexuellen Reproduktion von	
<i>Pilobolus sphaerosporus</i> . Mit 10 Textabbildungen . . . . .	80



(Botany School, University of Cambridge, England.)

## **Die Sammlung von Algen-, Flagellaten- und Mooskulturen am Botanischen Institut der Universität Cambridge.**

**Culture Collection of Algae and Protozoa, Botany School,  
University of Cambridge, England.**

Von

**E. G. PRINGSHEIM.**

*(Eingegangen am 4. Februar 1950.)*

Die Anfänge der Sammlung gehen auf die zwanziger Jahre zurück, nachdem die früheren Kulturen während des ersten Weltkrieges verloren gegangen waren. Als der Verfasser die Leitung des Pflanzenphysiologischen Institutes der Deutschen Universität in Prag übernommen hatte, kamen bald so viele Algenreinkulturen zusammen, daß es nicht möglich war, alle Probleme in Angriff zu nehmen, die mit ihrer Hilfe hätten bearbeitet werden sollen. Die Stämme der Sammlung wurden deshalb gegen eine Gebühr anderen Instituten angeboten. Die erste Liste von 48 Arten wurde 1928 in den Berichten der Deutschen Botanischen Gesellschaft und dem Archiv für Protistenkunde veröffentlicht. Die nächste Liste (1930) enthielt schon mehr als doppelt so viele Arten. Die Verfahren, die damals angewendet wurden, um Reinkulturen zu erzielen und zu erhalten, wurden 1926 geschildert.

Im November 1938 wurde dem Verfasser die Fortführung seiner Amtspflichten und der Laboratoriumsarbeit unmöglich gemacht. Das Institut wurde unter politischem Druck von den tschechischen Behörden an VICTOR CZURDA, Assistent seit 1923, übergeben. Die Kulturensammlung wurde weiter geführt, so daß Reste davon noch vorhanden waren, als nach dem deutschen Zusammenbruch das Institut von der tschechischen Universität übernommen wurde.

Soweit es möglich war, nahm der Verfasser Abimpfungen der Sammlungsstämme in seine Wohnung, wo sie aber nicht weiter gezüchtet werden konnten, so daß die gleichen Röhrchen ihn Ende Februar 1939 nach London begleiteten. Prof. F. E. FRITSCH sorgte in der selbstlosesten Weise dafür, daß mir in seinem Institut im Queen Mary College, Universität London, die Möglichkeit der Fortführung der Sammlung geboten wurde, und Dr. M. GODWARD trat mir ihr Zimmer ab. Trotzdem war es infolge von Krankheit, des schlechten Zustandes der Kulturen und der Fremdheit der Verhältnisse nicht leicht, die Stämme wieder aufzufrischen.

Die Sammlung konnte aber doch nahezu vollständig wieder hergestellt werden, wobei mir Dozent Dr. OTTO JÍROVEC, Zoologisches Institut der tschechischen Universität in Prag, behilflich war, bei dem ich einige Stämme der Sicherheit wegen zurückgelassen hatte.

Als es so weit war, brach der Krieg aus. Wir siedelten nach Cambridge über, und ich mußte in der Botany School von neuem anfangen. Glücklicherweise konnte Prof. FRITSCH meiner Frau, die schon vorher viele Jahre meine Mitarbeiterin gewesen war, die Möglichkeit verschaffen, mir im Laboratorium zu helfen. Obgleich ich auch in Cambridge viel Entgegenkommen fand, war doch der Mangel jeder technischen Hilfe und das Fehlen vieler Materialien während des Krieges eine große Erschwerung. Wir waren ja Gäste des Londoner College, das seinerseits von der Cambridger Universität aufgenommen war.

Die Forschungsarbeit wurde aber doch wieder aufgenommen. In der wasserreichen Umgebung von Cambridge, bei dem meist milden Winterwetter und der hohen Luftfeuchtigkeit war es viel leichter, geeignetes Material zu sammeln, als in der trockenen Umgebung und dem kontinentalen Klima von Prag. Als Hauptaufgabe aber erschien die Verbesserung der Methoden der Isolierung und Kultur.

Als ich begann, englisch zu publizieren, wobei mir von neuem die freundschaftliche und geduldige Hilfe von Prof. FRITSCH unentbehrlich war, wurden unsere Bemühungen besser bekannt, und der Gebrauch unserer Kulturen nahm zu. Nachdem in der Erde-Wasser-Kulturtechnik die Möglichkeit gefunden worden war, das Material in einem gesunden und natürlichen Zustande heranzuziehen, kam Zuchtmaterial nun auch für Unterrichtszwecke mehr und mehr in Aufnahme. Fast alle botanischen und zoologischen Institute der Universitäten und viele Schulen machen von dieser Möglichkeit Gebrauch. Das wäre mit den alten Methoden der Agar- und Nährlösungszüchtung nicht gelungen.

Mein kleines Buch „Pure Cultures of Algae“ (1946) war bald vergriffen, ist aber wieder gedruckt worden. Es machte unsere Arbeitsrichtung so bekannt, daß die Beantwortung der einlaufenden Anfragen und die Lieferung von Kulturen starke Anforderungen stellt. Ein an Vielfältigkeit und Umfang alle Erwartungen übersteigender Gebrauch von Algen und Flagellaten setzte ein.

Inzwischen hatte im Jahre 1946 die Universität Cambridge die Verantwortung für die Erhaltung der Kulturensammlung übernommen, so daß ein gewisses Maß von Sicherheit für die Zukunft erreicht ist. Der Zunahme der Sammlung sind zwar durch die Raumverhältnisse Grenzen gesteckt; es war aber möglich, durch Verwendung künstlicher Lichtquellen und durch die Zusammendrängung vieler kleiner Kulturröhrchen auf engem Raume, wenn die Vermehrung auf der Höhe ist, ungefähr 2000 Röhrchen mit 400 Arten unterzubringen, so daß nicht nur die von uns isolierten, sondern auch viele wertvolle Kulturen aus dem In- und Auslande in die Sammlung aufgenommen werden konnten.

Das Ziel muß eine umfassende Zentralstelle für experimentelle Algen- und Flagellatenkunde sein, die sich auf eine Sammlung stützt, welche nach Möglichkeit alle Stämme umfaßt, mit denen wichtige Forschungen



angestellt worden sind. Die Erreichung dieses Zieles ist leider durch die Nachkriegszustände hinausgeschoben worden; aber die Bedeutung einer solchen Zentrale wird immer klarer und ist von vielen maßgebenden Forschern anerkannt worden.

Die in der folgenden Liste aufgestellten Kulturen stehen für Lehr- und Forschungszwecke zur Verfügung. Hochschul- und andere wissenschaftliche Institute zahlen für jede Kultur 2,50 DM, kaufmännische Unternehmungen und Industrielaboratorien 10 DM, und zwar an die Universität Cambridge durch 'The Office, The Botany School, Downing Street, Cambridge, England'. Gewöhnlich werden die Kulturen durch die allgemeine Briefpost versandt, ohne daß dafür besonders zu bezahlen ist. Luftpostverschickung dagegen ist vom Besteller zu bezahlen. Unter besonderen Umständen können einzelne Kulturen ohne Bezahlung abgegeben werden<sup>1</sup>.

Die meisten Stämme werden auf Schrägagar fortgezüchtet und sind frei von anderen Organismen, also Reinkulturen. Diejenigen, die Bakterien enthalten, sind mit 'B', diejenigen, die nur in Nährlösungen gezogen werden konnten, sind mit 'L' bezeichnet.

Es wird gebeten, bei der Bestellung den Zweck anzugeben, für den die Kulturen bestimmt sind. Mit einer Lieferzeit von 1 Monat ist zu rechnen, da oft erst Abimpfungen gemacht werden müssen; nach Möglichkeit findet aber die Verschickung sogleich nach Einlauf der Bestellung statt.

Gern werden für die Sammlung Stämme übernommen, die anderswo isoliert worden sind, besonders wenn sie zu wichtigen Untersuchungen gedient haben oder aus anderen Gründen von besonderem Interesse sind. Die Verantwortung für die richtige Bestimmung übernimmt der Einsender.

Die folgenden Abkürzungen für die Namen derjenigen, die Stämme der Sammlung isoliert und bestimmt haben, sind verwendet worden:

Beij.	M. W. Beijerinck	G.	E. A. George	On.	K. Ondraček
Br.	M. A. Brannon	Gen.	Genfer Schule von	P.	E. G. Pringsheim
Ch.	R. Chodat		Robt. Chodat	R.	W. Rodhe
Cz.	V. Czurda	H.	M. Hartmann	T. C.	T. Christensen
D.	Delft, Laboratorium	J.	O. Jaag	V.	W. Vischer
	voor Microbiologie	Ku.	H. Kufferath		
Em.	Robt. Emerson	M.	F. Mainx		
Paris	— Muséum National	d'Histoire	Naturelle		

### Literatur.

PRINGSHEIM, E. G.: Beitr. Biol. Pflanz. **14**, 283 (1926). — Ber. dtsch. bot. Ges. **46**, 216 (1928). — Arch. Protistenkde **63**, 256 (1928); **69**, 659 (1930). — Pure Cultures of Algae, their preparation and maintenance; Cambridge University Press 1946.

<sup>1</sup> Anmerkung der Redaktion.

Eine recht ansehnliche Sammlung von Algenkulturen besitzt auch die *Botanische Anstalt der Universität Basel*. Die Stämme sind im allgemeinen Abkömmlinge einer einzigen Zelle und bakterienfrei. Interessenten können sich unter Angabe ihrer Wünsche an Professor Dr. M. GEIGER-HUBER oder Professor Dr. W. VISCHER (Basel, Schönbeinstr. 6) wenden. Die Kulturen werden im Tausch gegen andere oder gegen eine Kostenvergütung von 5 Schweizerfranken abgegeben. Ein Verzeichnis der Sammlung wird auf Wunsch zugesandt.

## Klasse: CHLOROPHYCEAE

## Ordnung: Volvocales.

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
3/1	<i>Asterococcus spongiosus</i> Vischer	V	Vischer Nr. 318
3/2	<i>A. terrestris</i> Vischer	P	von Miß R. John
LB 8/1	<i>Carteria acidicola</i> Fritsch & John	P	„
8/2	<i>C. arenicola</i> Fritsch & John	P	„
8/3	<i>C. eugametos</i> Mitra	P	von Mitra
LB 8/4	<i>C. incisa</i> Pringsheim	P	
8/5	<i>C. sp.</i>	P	
LB 8/6	<i>C. Chuii</i> Pringsheim	P	marin
LB 10/1	<i>Chlamydobotrys stellata</i> Korsh.	P	
11/1	<i>Chlamydomonas agloe-</i> <i>formis</i> Pascher	M	
11/2	<i>C. applanata</i> Pringsheim	P	
11/3	<i>C. Brannonii</i> nom. prov. (Pringsheim)	P	von Brannon, Madison, U. S. A.
11/4	<i>C. dorsoventralis</i> Pascher	M	
11/5	<i>C. (?) eugametos</i> Moewus	Cz	von Moewus. Diöcische (+) u. (—) Stämme
11/6	<i>C. (?) eugametos</i> Moewus	Cz	von Moewus. Sub- diöcische (+) u. (—) Stämme
11/7	<i>C. gloeopara</i> Rodhe et Skuja	R	Rodhe Nr. 1635
11/8	<i>C. gyrus</i> Pascher	P	
11/9	<i>C. humicola</i> Lucksch	Lucksch	
11/10	<i>C. incisa</i> Pringsheim	P	
11/11	<i>C. indica</i> Mitra	P	von Mitra
11/12	<i>C. inflexa</i> Pringsheim	P	
11/13	<i>C. intermedia</i> Chodat	P	
11/14	<i>C. Iyengarii</i> Mitra	P	von Mitra
11/16	<i>C. Moewusii</i> Gerloff	Provasoli	induzierte Mutanten von Lewin
11/17	<i>C. monoica</i> Strehlow	P	von Kniep
11/18	<i>C. oblonga</i> Pringsheim	P	
11/19	<i>C. orbicularis</i> Pringsheim	P	
11/20	<i>C. oviformis</i> Pringsheim	P	
11/21	<i>C. proteus</i> Pringsheim	P	
11/22	<i>C. pseudagloe</i> Pascher	P	
11/23	<i>C. pseudococum</i> Lucksch	Lucksch	
11/24	<i>C. pulchra</i> Pringsheim	P	
11/25	<i>C. pulvinata</i> Vischer	V	Vischer Nr. 4
11/26	<i>C. (?) simplex</i> Pascher	P	von Moewus
11/27	<i>C. sphaerella</i> nom. prov. (Pringsheim)	P	
11/28	<i>C. subangulosa</i> John	P	von Miß John. [ <i>C. (?) pseudagloe</i> Pascher]



Klasse: **CHLOROPHYCEAE**Ordnung: **Volvocales.**

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
11/29	<i>C. subglobosa</i> Pringsheim	P	
11/30	<i>C. subtilis</i> Pringsheim	P	
11/31	<i>C. sp. „Lever“</i>	P	von Lever Bros. Ltd.
11/33	<i>C. sp. aff. rotula</i> Vischer	V	Vischer Nr. 389
12/1	<i>Chlorogonium (?) acus</i> Matvienko	P	
12/2a	<i>C. elongatum</i> Dangeard	P	von Hartmann.
12/2b	<i>C. „ „ „</i>	G	aus Süd Afrika
12/3	<i>C. euchlorum</i> Ehrbg.	M	
12/4	<i>C. (?) tetragamum</i> Bohlin	Meyer	
LB 19/1	<i>Dunaliella eugametos</i> Moewus	P	von Lerche, Berlin
LB 19/2	<i>D. Peircei</i> Nicolai	P	von Nicolai, Leiden
LB 19/3	<i>D. salina</i> (Dunal) Teodorescu.	M	von Pascher, Prag
19/4	<i>D. sp. marin</i>		Prag Nr. 281 a (marin)
24/1a	<i>Eudorina elegans</i> Ehrbg.	M	
24/1b	<i>E. „ „ „</i>	R	Rodhe Nr. 1637 b
31/1	<i>Gloeocystis maxima</i> Mainx	M	
32/1	<i>Gonium pectorale</i> Müller	P	
32/2	<i>G. sociale</i> Warming	P	
32/3	<i>G. tetras</i> Hartmann	Meyer	von Hartmann, Berlin
34/1a	<i>Haematococcus pluvialis</i> Flotow em. Wille		von Naumann
34/1b	<i>H. „ „ „</i>	P	
34/1c	<i>H. „ „ „</i>	M	
34/1d	<i>H. „ „ „</i>	V	Vischer Nr. 2
37/1	<i>Hyalogonium ? Klebsii</i> Pascher	P	
45/1	<i>Lobomonas piriiformis</i> Pringsheim	P	
60/1a	<i>Pandorina morum</i> Bory	Cz	
60/1b	<i>P. „ „ „</i>	Chu	
62/1	<i>Polytoma fusiforme</i> Korsh.	P	(2 Stämme)
62/2	<i>P. uvella</i> Ehrnbg.	P	(verschiedene Stämme mit und ohne Stigma)
63/1	<i>Polytomella agilis</i> Aragao	P	
63/2	<i>P. caeca</i> Pringsheim	P	(verschiedene Stämme)
63/3	<i>P. magna</i> nom. prov. (Pringsheim)	P	
LB 64/1	<i>Pteromonas (?) protracta</i> (Stein) Lemm.	P	
LB 64/2	<i>P. sp.</i>	P	
LB 64/3	<i>P. sp.</i>	P	
L 88/1	<i>Volvox aureus</i> Ehrenbg.	G	
L 88/2	<i>V. globator (L.)</i> Ehrenbg.	G	
L 88/3	<i>V. tertius</i> Meyer	G	

Klasse: **CHLOROPHYCEAE**Ordnung: **Chlorococcales.**

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
202/1	<i>Ankistrodesmus amalloides</i> Chodat et Oettli	V	Vischer Nr. 6
202/2	<i>A. angustus</i> Chodat et Oettli	V	Vischer Nr. 9
202/3	<i>A. falcatus</i> (Corda) Ralfs	R	Rodhe Nr. 1631 a
202/4	<i>A. falcatus</i> (?) var. <i>mirabilis</i> West	Cz	
202/5	<i>A. falcatus</i> var. <i>stipitatus</i> (Chod.) Lemm.	Cz	Prag Nr. 262
202/6	<i>A. nannoselene</i> Skuja	R	Rodhe Nr. 1632
202/7	<i>A. aff. Braunii</i>	V	Vischer Nr. 106
202/8	<i>A. sp.</i>	V	Vischer Nr. 339
211/1 a	<i>Chlorella ellipsoidea</i> Gerneck	P	Meyer Nr. 11
211/1 b	<i>C. „ „</i>	Br	von Brannon als Nr. 6
211/1 c	<i>C. „ „</i>	R	Rodhe Nr. 1633
211/2 a	<i>C. luteoviridis</i> Chodat	Ku	Originalstamm von Kufferath. Meyer Nr. 14, Genf Nr. 95 aus Baarn
211/2 b	<i>C. „ „</i>		
211/3	<i>C. luteoviridis</i> var. <i>aureo- viridis</i> Meyer	D	Meyer Nr. 15
211/4	<i>C. luteoviridis</i> var. <i>lutescens</i> Chod.	Ku	Meyer Nr. 13 Genf Nr. 111
211/5	<i>C. miniata</i> (Naeg.) Oltmanns	P	Meyer Nr. 18
211/6	<i>C. paramaccii</i> Loefer	Loefer	von Hall, New York
211/7 a	<i>C. protothecoides</i> Krüger	Krüger	Originalstamm Meyer Nr. 17
211/7 b	<i>C. „ „</i>	D	Meyer Nr. 36
211/7 c	<i>C. „ „</i>	D	Meyer Nr. 34
211/8 a	<i>C. pyrenoidosa</i> Chick	P	Meyer Nr. 18
211/8 b	<i>C. (?) „ „</i>	Em	von Robert Emerson in seiner Arbeit über Eisenmangel u. Photosynthese als <i>C. vulgaris</i> - verwandt.
211/8 c	<i>C. „ „</i>	Em	Ident. von Kolkwitz
211/8 d	<i>C. (?) „ „</i>	P	(?) <i>C. saccharophila</i>
211/8 e	<i>C. „ „</i>	R	Rodhe Nr. 1622 a
211/9 a	<i>C. saccharophila</i> (Krüger) Nadson	Krüger	Meyer Nr. 12
211/9 b	<i>C. „ „</i>	P	
211/10 a	<i>Chlorella variegata</i> Beijerinck	Beij	Meyer Nr. 20 Chodat Nr. 21
211/10 b	<i>C. „ „</i>	Beij	Meyer Nr. 21
211/10 c	<i>C. „ „</i>	Beij	Meyer Nr. 22



## Klasse: CHLOROPHYCEAE

## Ordnung: Chlorococcales.

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
211/10d	<i>Chlorella variegata</i> Beijerinck		aus Delft
211/10e	<i>C.</i> " "		aus Prag
211/11a	<i>C. vulgaris</i> Beijerinck	P	Meyer Nr. 1
211/11b	<i>C. vulgaris</i> Beijerinck	Beij	Meyer Nr. 35 aus Delft als <i>C. miniata</i>
211/11c	<i>C.</i> " "	P	Meyer Nr. 3
211/11d	<i>C.</i> " "	Br	Brannon Nr. 1
211/11f	<i>C.</i> " "	P	
211/11g	<i>C.</i> " "		von Winokur, New York
211/11h	<i>C.</i> " "		von R. Pratt in sei- ner Arbeit mit Trealease über „Chlorellin“ ver- wandt
211/11i	<i>C.</i> " "		aus Baarn
211/11j	<i>C.</i> " "	R	Rodhe Nr. 1630
211/12	<i>C.</i> " " var. <i>viridis</i> Chodat	Chod	Genf Nr. 45 Meyer Nr. 2
211/13	<i>C. xanthella</i> Beijerinck	Beij	aus Delft Prag Nr. 270
211/14	<i>C. Zopfingeriensis</i> Döns	Döns	Meyer Nr. 30
211/15	<i>C. sp.</i>	P	vermutlich = 211/16
211/16	<i>C. sp.</i>	P	vermutlich = 211/15
211/17	<i>C. sp.</i>		aus Baarn
212/1	<i>Chlorochytrium</i> sp.	P	von Mitra
213/1a	<i>Chlorococcum humicolum</i> (Naeg.) Rabenh.	P	Meyer Nr. <i>Chlor.</i> 4
213/1b	<i>C.</i> " "	Beij	Meyer Nr. <i>Chlor.</i> 8
213/2	<i>C. infusionum</i> (Schränk) Menegh.	M	Meyer Nr. <i>Chlor.</i> 6
213/3	<i>C. sociabile</i> Brand	Beij	aus <i>Cladonia</i> sp.
213/4	<i>C. Wimmeri</i> Rabenh.	M	Meyer Nr. <i>Chlor.</i> 7
214/1	(?) <i>Chlorosarcina</i> sp.	P	
215/1	<i>Chlorosphaera Klebsii</i> Vischer	V	Vischer Nr. 58 Meyer Nr. <i>Chlor.</i> 16
216/1	<i>Coccomyxa arvenensis</i> Jaag	J	
216/2	<i>C. Chodatii</i> Jaag	J	
216/3a	<i>C. elongata</i> Jaag	P	Ident. durch Jaag
216/3b	<i>C.</i> " "	J	
216/3c	<i>C.</i> " "	Br	Brannon Nr. 3
216/4	<i>Coccomyxa mucigena</i> ( <i>peltigerae aphthosae</i> ) Jaag	J	
216/5	<i>C. peltigerae</i> Wären	J	
216/6	<i>C. p. variolosae</i> Jaag	J	
216/7	<i>C. Pringsheimii</i> (botry- dinae) Jaag	J	
216/8	<i>C. Rayssiae</i> Chodat et Jaag	J	

Klasse: **CHLOROPHYCEAE**Ordnung: **Chlorococcales.**

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
216/9a	<i>C. simplex</i> Mainx	P	
216/9b	<i>C. "</i>	M	
216/10	<i>C. solorinae bisporae</i> Jaag	J	
216/11	<i>C. s. croceae</i> Chodat	J	2 Stämme
216/12	<i>C. s. saccatae</i> Chodat	J	
216/13	<i>C. subellipsoidea</i> Acton	P	aus Botrydina
216/14	<i>Coccomyxa viridis</i> Chodat	J	
217/1a	<i>Coelastrum microporum</i> Naegeli	P	
217/1b	<i>C. "</i>	R	Rodhe 1615a
217/2	<i>C. proboscideum</i> Bohlin var. <i>dilatatum</i> Vischer	V	Vischer Nr. 13
217/3	<i>C. proboscideum</i> Bohlin var. <i>gracile</i> Vischer	V	Vischer Nr. 15
218/1	<i>Crucigenia apiculata</i> (Lemm.) Schm.	G	Paris Nr. 89
219/1	<i>Cystococcus humicola</i> (Naeg.) Treboux	D	Meyer Nr. Chlor. 2
220/1a	<i>Dictyochloris fragans</i> Vischer	V	Vischer Nr. 334
220/1b	<i>D. "</i>	V	Vischer Nr. 335
221/1	<i>Dictyococcus minor</i> Petrova	Chod	
222/1a	<i>Dictyosphaerium Ehren-</i> <i>bergianum</i> Naeg.	P	
222/1b	<i>D. "</i>	G	
222/2	<i>D. pulchellum</i> Wood	G	
224/1	<i>Dimorphococcus lunatus</i> A. Br.	G	Paris Nr. 90
227/1	<i>Elakatothrix viridis</i> (Snow) Printz	G	Paris Nr. 38
LB 228/1	<i>Eremosphaera viridis</i> De Bary	G	
230/1	<i>Gyoeffia humicola</i>	van Niel	gesandt von Robert Emerson
235/1	<i>Hyaloraphidium curvatum</i> Korsh.	Lewin	
LB 236/1	<i>Hydrodictyon reticulatum</i> (L.) Lagerh.	G	
237/1	<i>Hypnomonas lobata</i> Korsh.	P	von Miß John
243/1	<i>Kirchneriella lunaris</i> (Kirch.) Moebius	P	
243/2	<i>K. subsolitaria</i> G. S. West	G	2 Stämme
249/1	<i>Muriella aurantiaca</i> Vischer	V	Vischer Nr. 108
249/2	<i>M. decolor</i> Vischer	V	Vischer Nr. 29
249/3	<i>M. magna</i> Fritsch et John	P	von Miß John
251/1	<i>Nannochloris coccoides</i> Naumann	Lewin	
257/1	<i>Oocystis Marssonii</i> Lemmerm.	Beij	
257/2	<i>O. sp.</i>	V	
261/1	<i>Pediastrum biradiatum</i> Meyen	R	Rodhe 1611a



Klasse: **CHLOROPHYCEAE**Ordnung: **Chlorococcales.**

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
LB 261/2	<i>P. Boryanum</i> (Turp.) Mengh.	P	
LB 261/3	<i>P. duplex</i> Meyen	P	
261/4	<i>P. duplex</i> var. <i>reticulatum</i> Lagerh.	R	Rodhe 1610a
261/5	<i>P. tetras</i> (Ehrenbg.) Ralfs	Cz	
263/1	<i>Prototheca chlorelloides</i> Beij.		aus Delft
263/2	<i>P. moriformis</i> Krüger		aus Delft
263/3	<i>P. portoricensis</i> Ciferri & Ashford	Ashford	aus Delft Pathogener Stamm
263/4	<i>P. portoricensis</i> var. <i>trisporus</i> C. & A.	Ashford	aus Delft
263/5	<i>P. Zopfii</i> Krüger	P	
263/6	<i>P. sp.</i>		aus Delft Isoliert aus <i>Xanthoria parietina</i>
268/1	<i>Quadrigula closterioides</i> (Bohlin) Printz	G	
276/1	<i>Scenedesmus basiliensis</i> Vischer	V	Vischer Nr. 8
276/2	<i>S. Naegelii</i> Chodat	R	Rodhe Nr. 1598 : 1
276/3	<i>S. obliquus</i> (Turp.) Krüger	P	
276/4a	<i>S. quadricauda</i> Bréb.	P}	Morphologisch verschiedene Stämme
276/4b	<i>S. „ „</i>	P}	
276/4c	<i>S. quadricauda</i> Turpin em. Chodat	R	Rodhe Nr. 1621a
276/5	<i>S. sp.</i>	P	
276/6	<i>S. sp.</i>	Gaffron	(Klon D3 von Gaffron)
276/7	<i>S. sp.</i>	P	
278/1	<i>Selenastrum Bibraianum</i> Reinsch	P	
278/2	<i>S. gracile</i> Reinsch	G	
278/3	<i>S. minutum</i> (Naeg.) Collins	Myers	Myers Tx 1

Ordnung: **Ulotrichales.**

335/1	<i>Hormidium Barlowi</i> Pringsh. (prov.)	P	2 Stämme = <i>H. nitens</i> ?
335/2	<i>H. flaccidum</i> A. Br.	P	2 Stämme
335/3	<i>H. nitens</i> Menegh.	P	
335/4	<i>H. (?) stoechidum</i>	P	
338/1	<i>Interfilum paradoxum</i> Chodat	P	von Miß John
LB 348/1	<i>Microspora sp.</i>	G	
379/1a	<i>Stichococcus bacillaris</i> Naeg.	V	
379/1b	<i>S. „ „</i>	V	Vischer Nr. 1

## Klasse: CHLOROPHYCEAE

## Ordnung: Ulotrichales.

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
379/2	<i>S. chloranthus</i> Krüger	Krüger	
379/3	<i>S. mirabilis</i> Lagerh.	P	
386/1	<i>Uronema Barlowi</i> Pringsh. (prov.)	P	
386/2a	<i>U. confervicolum</i> Lagerh.	P	
386/2b	<i>U.</i> " "	Br	Brannon Nr. 4
386/3	<i>U. gigas</i> Vischer	V	Vischer Nr. 69

## Ordnung: Chaetophorales.

410/1	<i>Caespitella Pascheri</i> Vischer	V	Vischer Nr. 45
445/1	<i>Leptosira obovata</i> Vischer	V	Vischer Nr. 46
450/1	<i>Microthamnion Kützingia-</i> <i>num</i> Naeg.	T C	
463/1	<i>Pleurastrum paucicellulare</i> Vischer	V	Vischer Nr. 68
463/2	<i>P. terrestre</i> Fritsch u. John	P	von Miß John
463/3	<i>P. terrestre</i> var. <i>indica</i> Mitra	P	von Mitra
465/1	<i>Pseudendocloniopsis</i> <i>botryoides</i> Vischer	V	Vischer Nr. 21
466/1	<i>Pseudendoclonium</i> <i>basiliense</i> Vischer	V	Vischer Nr. 3
466/2	<i>P.</i> " " <i>Brandii</i> " Vischer	V	Vischer Nr. 52
467/1	<i>Pseudopleurococcus</i> <i>Printzii</i> Vischer	V	Vischer Nr. 10
470/1	<i>Raphidonema longiseta</i> Vischer	V	Vischer Nr. 97
470/2	<i>R. spiculiforme</i> Vischer	V	Vischer Nr. 208
477/2	<i>Stigeoclonium helveticum</i> Vischer var. <i>minus</i> Vischer	V	Vischer Nr. 26
477/3	<i>S. sp.</i>	Lewin	Lewin Nr. 2
477/4	<i>S. sp.</i>	Lewin	Lewin Nr. 3
477/5	<i>S. sp.</i>	Lewin	Lewin Nr. 5
477/6	<i>S. sp.</i>	Lewin	Lewin Nr. 6

## Ordnung: Cladophorales.

LB 505/1	<i>Cladophora crispata</i> (Roth) Kütz.	G	
LB 505/2	<i>C. fracta</i> Kütz.	G	

## Ordnung: Oedogoniales.

LB 575/1	<i>Oedogonium cardiacum</i> Wittr.	T C	♀ u. ♂ Stämme (macrandrisch)
----------	---------------------------------------	-----	---------------------------------



Klasse: **CHLOROPHYCEAE**Ordnung: **Conjugales.**

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
612/1	<i>Cosmarium Botrytis</i> Mengh.	Cz	
612/2	<i>C. impressulum</i> Elfv.	Cz	
612/3	<i>C. margaritiferum</i> (Turp.) Menegh.	On	
612/4	<i>C. sp.</i>	On	Prag Nr. 227
612/5	<i>C. sp.</i>	On	Prag Nr. 228
612/6	<i>C. sp.</i>	On	Prag Nr. 230
612/7	<i>C. sp.</i>	On	Prag Nr. 232
612/8	<i>C. sp.</i>	On	Prag Nr. 245
612/9	<i>C. sp.</i>	On	Prag Nr. 246
612/10	<i>C. sp.</i>	On	Prag Nr. 239
612/11	<i>C. sp.</i>	On	Prag Nr. 242
LB 615/1	<i>Cylindrocystis Brebissonii</i> Menegh.	G	
LB 637/1	<i>Hyalotheca dissiliens</i> (Sm.) Bréb.	P	
648/1	<i>Mesotaenium caldariorum</i> (Lagerh.) Hansg.	Cz	
LB 650/1	<i>Mougeotia sp.</i>	G	
LB 678/1	<i>Spirogyra</i> ? <i>Grevilleana</i> (Hass.) Kütz.	G	
LB 678/2	<i>S. ? majuscula</i> Kütz.	G	
LB 678/3	<i>S. varians</i> (Hass.) Kütz.	G	
679/1	<i>Staurostrum sp.</i>	Cz	Prag Nr. 226
698/1 a	<i>Zygnema circumcarinatum</i> Czurda	Cz	Prag Nr. 208 (+ -Stamm)
698/1 b	<i>Z. „ „</i>	Cz	Prag Nr. 209 (—Stamm)
698/2	<i>Z. cylindricum</i> Transeau	Cz	Prag Nr. 211
698/3 a	<i>Z. peliosporum</i> Wittr.	Cz	Prag Nr. 206 (♂ Stamm)
698/3 b	<i>Z. „ „</i>	Cz	Prag Nr. 205 (♀ Stamm)
698/4	<i>Z. sp.</i>	P	

Ordnung: **Siphonales.**

731/1	<i>Protosiphon botryoides</i> (Kütz.) Klebs	P	Monoecisch
731/2	<i>P. „ „</i>	P	
731/3	<i>P. „ „</i>		
745/1	f. <i>parieticola</i> Iyengar <i>Vaucheria sessilis</i> (Vauch.) D. C.	Mitra	Prag Nr. 48 b
LB 745/2	<i>V. (?) terrestris</i> Lyngb.	Keil P	
LB 745/3	<i>V. Woroniniana</i> Heering	T C	

Klasse: **XANTHOPHYCEAE**Ordnung: **Heterochloridales, Heterococcales.**

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
806/1	<i>Botrydiopsis alpina</i> Vischer	V	Vischer Nr. 232
806/2	<i>B. arrhiza</i> Borzi	P	
806/3	<i>B. intercedens</i> Vischer & Pascher	Gen	syn. <i>Pleurochloris pachychlamys</i> Pascher; Vischer Nr. 171, Genf Nr. 522
809/1	<i>Bumilleriopsis brevis</i> Vischer	(?) V	
809/2	<i>B. filiformis</i> Vischer	V	Vischer Nr. 360
809/3	<i>B. Peterseniana</i> Vischer	V	Vischer Nr. 38
811/1	<i>Chlorellidium tetrabotrys</i> Vischer & Pascher	V	Vischer Nr. 153 Zwei Klone (a) u. (b)
847/1	<i>Mischococcus sphaerocephalus</i> Vischer	V	Vischer Nr. 61
850/1	<i>Nephrodiella brevis</i> Vischer	V	Vischer Nr. 267
855/1	<i>Ophiocytium majus</i> Naegeli	P	
860/1	<i>Pleurochloris commutata</i> Vischer	V	Vischer Nr. 241
860/2	<i>P. magna</i> Petersen	V	Vischer Nr. 316
860/3	<i>P. meiringensis</i> Vischer	V	Vischer Nr. 368
861/1	<i>Polyedriella helvetica</i> Pascher	Gen	Vischer Nr. 170 Genf Nr. 255
887/1	<i>Vischeria punctata</i> Vischer	V	Vischer Nr. 266
887/2	<i>Vischeria stellata</i> (Poulton) Pascher	Gen	Vischer Nr. 169 Genf Nr. 185

Ordnung: **Heterotrichales.**

835/1	<i>Heterococcus brevicellularis</i> Vischer	V	Vischer Nr. 351
835/2 a	<i>H. caespitosus</i> Vischer	V	Vischer Nr. 116
835/2 b	<i>H.</i> „ „	V	Vischer Nr. 131
835/3	<i>H. Chodatii</i> Vischer	Gen	Vischer Nr. 161 syn. <i>H. viridis</i> Chodat
835/4	<i>H. crassulus</i> Vischer	V	Vischer Nr. 367
835/5	<i>H. fuornensis</i> Vischer	V	Vischer Nr. 279
835/6	<i>H. Mainzii</i> Vischer	M	Vischer Nr. 160
835/7	<i>H. Marietanii</i> Vischer	V	Vischer Nr. 167
835/8	<i>H. moniliformis</i> Vischer	V	Vischer Nr. 157
835/9	<i>H. protonematoides</i> Vischer	V	Vischer Nr. 369
836/1	<i>Heterothrix debilis</i> Vischer	V	Vischer Nr. 50
836/2	<i>H. hormidioides</i> Vischer	V	Vischer Nr. 358
936/3	<i>H. montana</i> Vischer	V	Vischer Nr. 288
836/4	<i>H. solida</i> Vischer	V	Vischer Nr. 214
836/5	<i>H. sp.</i>	V	Vischer Nr. 391
880/1	<i>Tribonema aequale</i> Pascher	P	Ident. von Pascher
880/2	<i>T. sp.</i>	T C	



Klasse: **XANTHOPHYCEAE**Ordnung: **Heterosiphonales.**

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
805/1	<i>Botrydium Bechererianum</i> Vischer	V	Vischer Nr. 192 a
805/2	<i>B. cystosum</i> Vischer	V	Vischer Nr. 196 a
805/3a	<i>B. granulatum</i> (L.) Grev.	V	
805/3b	<i>B.</i> „	V	
805/4	<i>B. granulatum</i> var. <i>Kolk-</i> <i>witzianum</i> Vischer	V	Vischer Nr. 31 a

Klasse: **CHRYSOPHYCEAE**

912/1	<i>Coccolithophora</i> sp.	P	(marin)
LB 930/1	<i>Monas pudica</i> (nom. prov.)	P	
L 933/1	<i>Ochromonas malhamensis</i> Pringsheim	Chen	
LB 960	<i>Synura</i> spp.	P	

Klasse: **BACILLARIOPHYCEAE**

1050/1	(?) <i>Navicula</i> sp.	G	Myers Nr. Tx 5
1050/2	<i>N.</i> sp.	Myers	
1052/1	<i>Nitzschia closterium</i> f. <i>minutissima</i> Allen & Nelson	P	aus Plymouth von T. R. Rice, USA.
1052/2	<i>N. frustulum</i> Kütz.	P	
1052/3	<i>N.</i> sp.	P	

Klasse: **CRYPTOPHYCEAE**

LB 977/1	<i>Chilomonas curvata</i> (auct.) Pringsheim	P	2 Stämme verschiedene Stämme
L 977/2	<i>C. paramaecium</i> Ehrbg.	P	
LB 979/1	<i>Cryptomonas erosa</i> Ehrbg.	P	2 Stämme
LB 979/2	<i>C. minuta</i> Pringsheim	P	
979/3	<i>C. ovata</i> Ehrbg. var. <i>palustris</i> Pringsheim	P	
LB 982/1	<i>Cyathomonas truncata</i> Ehrbg.	P	
LB 986/1	<i>Kathablepharis</i> sp.	P	

## Klasse: EUGLENINEAE

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
LB 1204/1	<i>Astasia applanata</i> Pringsh.	P	
LB 1204/2	<i>A. clava</i> Pringsheim	P	
LB 1204/4	<i>A. comma</i> Pringsheim	P	
LB 1204/5	<i>A. curvata</i> Klebs	P	
LB 1204/6	<i>A. cylindrica</i> Pringsheim	P	
LB 1204/7	<i>A. Dangeardii</i> Lemmerm.	P	
LB 1204/8	<i>A. Fritschii</i> Pringsheim	P	( <i>Khawkinea</i> Jahn & Kibben) 2 Stämme
LB 1204/10	<i>A. gomphonema</i> Pringsheim	P	
LB 1204/12	<i>A. Hallii</i> (Jahn & Kibben) Pringsheim	P	<i>Khawkinea halli</i> Jahn et Kibben
LB 1204/13	<i>A. Harrisii</i> Pringsheim	P	
LB 1204/14	<i>A. inflata</i> Klebs	P	
LB 1204/15	<i>A. Klebsii</i> Lemm.	P	
LB 1204/16	<i>A. linealis</i> Pringsheim	P	<i>Cyclidiopsis acus</i> Korsh.
1204/17	<i>A. longa</i> Pringsheim	P	
1204/18	<i>A. longa</i> var. <i>truncata</i> Pringsheim	P	
1204/3	<i>A. Pertyi</i> Pringsheim	P	( <i>Khawkinea</i> Jahn & Kibben)
LB 1204/20	<i>A. quartana</i> (Moroff) Pringsheim	P	2 Stämme " " "
LB 1204/21	<i>A. torta</i> Pringsheim	P	
1211/1	<i>Colacium cyclopicolum</i> (Gicklhorn) Pringsheim	P	
1211/2	<i>C. mucronatum</i> Bourrelly	P	von Daphnia aus Paris
LB 1216/1	<i>Distigma curvata</i> Pringsheim var. <i>major</i> Pringsh.	P	2 Stämme
LB 1216/2	<i>D. gracilis</i> Pringsheim	P	
LB 1216/3	<i>D. proteus</i> Ehrbg.	P	
LB 1216/4	<i>D. Sennii</i> Pringsheim	P	
LB 1224/1	<i>Euglena acus</i> Ehrbg.	P	2 Stämme
1224/18	<i>E. agilis</i> Carter	M	als <i>E. pisciformis</i>
1224/2	<i>E. anabaena</i> Mainx var. <i>minor</i> Mainx	M	
1224/19	<i>E. deses</i> Ehrbg.	P	
LB 1224/3	<i>E. deses</i> Ehrbg. var. <i>major</i> Pringsheim	P	
LB 1224/4a	<i>E. geniculata</i> Duj.	P	
1224/4b	<i>E. " "</i>	M	
1224/4c	<i>E. " "</i>	V	Vischer Nr. 400
1224/5a	<i>E. gracilis</i> Klebs	M	
1224/5b	<i>E. " "</i>	Elmore	
1224/5c	<i>E. " "</i>	V	Vischer Nr. 22
1224/5d	<i>E. " "</i>	P	mehrere Stämme
1224/6	<i>E. " "</i>		
	var. <i>urophora</i> Chadefand et Provasoli	Provasoli	
1224/7	<i>E. gracilis</i> Klebs		
	var. <i>bacillaris</i> Pringsheim	Provasoli	
LB 1224/8	<i>E. granulata</i> (Klebs) Lemm.	P	



## Klasse: EUGLENINEAE

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
1224/20	<i>E. Mesnili</i> Deflandre et Dusi	Dusi	Typus-Stamm
1224/9a	<i>E. mutabilis</i> Schmitz	Chu	
1224/9b	<i>E.</i> „ „	M	
LB 1224/10	<i>E. oxyuris</i> Schmarda	P	2 Stämme
LB 1224/11	<i>E. proxima</i> Dangeard	P	
LB 1224/12	<i>E. sociabilis</i> Dangeard	P	
LB 1224/13	<i>E. spirogyra</i> Ehrbg.	P	
1224/14	<i>E. stellata</i> Mainx	M	2 Stämme
1224/15	<i>E. thinophila</i> Skuja	P	
LB 1224/16	<i>E. tripteris</i> (Duj.) Klebs	P	
		P	
1224/17a	<i>E. viridis</i> Ehrbg.	P	Bourrelly Nr. 108
1224/17b	<i>E.</i> „ „	P	
LB 1237/1	<i>Hyalophacus ocellatus</i> Pringsheim	P	
LB 1244/1	<i>Lepocinclis Buetschlii</i> Lemm.	P	
LB 1244/2	<i>L. globosa</i> Francé	P	( ? var. <i>Suecica</i> Lemm.)
LB 1244/3	<i>L. ovum</i> (Ehrbg.) Lemm.	P	
LB 1244/4	<i>L. Steinii</i> Lemm.	P	
		P	
LB 1244/5	<i>L. (?)texta</i> (Duj.) Lemm.	G	2 Stämme
LB 1247/1	<i>Menoidium bibacillatum</i> Pringsheim	P	
LB 1247/2	<i>M. cultellus</i> Pringsheim	P	
LB 1247/3	<i>M. intermedium</i> Pringsheim	P	
LB 1247/4	<i>M. obtusum</i> Pringsheim	P	mehrere Stämme
1260/1	<i>Peranema trichophorum</i> Stein	Chen	
LB 1261/1	<i>Phacus acuminata</i> Klebs.	P	
LB 1261/2	<i>P. alata</i> Klebs	P	
LB 1261/3	<i>P. pleuronectes</i> (O.F.M.) Duj.	P	2 Stämme
LB 1261/4	<i>P. pyrum</i> (Ehrbg.) Stein	P	
LB 1271/1	<i>Rhabdomonas costata</i> (Korsh.) Pringsh.	P	<i>Menoidium longum</i> Pringsh.
LB 1271/2	<i>R. gibba</i> (Skuja) Pringsheim	P	<i>Menoidium incur-</i> <i>vum</i> (Fres.) Klebs
LB 1271/3	<i>R. incurva</i> Fresenius	P	
LB 1271/5	<i>R. spiralis</i> Pringsheim	P	
LB 1283/1	<i>Trachelomonas abrupta</i> Swir. var. <i>obesa</i> Defl.	P	
LB 1283/2	<i>T. hispida</i> Perty var. <i>coronata</i> Lemm.	P	
LB 1283/3	<i>T. hispida</i> Perty var. <i>punctata</i> Lemm.	P	
LB 1283/4	<i>T. volvocina</i> Ehrbg. typ.	P	

## Klasse: RHODOPHYCEAE

1380/1	<i>Porphyridium cruentum</i> (Ag.) Naeg.	V	Vischer Nr. 107
--------	---	---	-----------------

## Klasse: MYXOPHYCEAE

## Ordnung: Chroococcales.

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
LB 1412/1	<i>Chroococcusturgidus</i> (Kütz.) Naeg.	Emerson	
L 1479/2	<i>Synechococcus cedorum</i> Sauvageau	Allen	
LB 1479/1	<i>Synechococcus elongatus</i> Naeg.	P	

## Ordnung: Nostocales.

B 1403/1	<i>Anabaena catenula</i> (Kütz.) Born. & Flah.		Utrecht P. 36
1403/2	<i>A. cylindrica</i> Lemm.	Fogg	
B 1403/4b	<i>A.</i> „ „		Utrecht P. 40
B 1403/6	<i>A.</i> sp.		Utrecht P. 21
B 1410/1	<i>Calothrix membranacea</i> Schmidle	P	von Mitra
B 1446/1a	<i>Lyngbya aestuarii</i> (Mert.) Liebm.		Utrecht P. 31
1446/1b	<i>L.</i> „ „ Liebm.		Utrecht P. 31a
B 1446/1c	<i>L.</i> „ „		Utrecht P. 32
B 1453/1	<i>Nostoc calcicola</i> Bréb.		Utrecht P. 33
B 1453/2	<i>N. ellipso sporum</i> (Desmaz.) Rabenh.		Utrecht P. 42
1453/3	<i>N. punctiforme</i> (Kütz.) Hariot		Utrecht P. 1
B 1453/4	<i>N.</i> sp.		Utrecht P. 12
1453/8	<i>N.</i> sp.	Gibson	Gibson: <i>Anabaena</i> 30
B 1453/9	<i>N.</i> sp.	Gibson	Gibson: <i>Anabaena</i> 2
B 1459/2	<i>Oscillatoria chalybia</i> Mertens		Utrecht P. 34
B 1459/3	<i>O. formosa</i> Bory	P	
B 1459/4	<i>O. tenuis</i> Ag.		Utrecht P. 27
B 1462/1	<i>Phormidium faveolarum</i> Gomont	De	
1462/2	<i>P. luridum</i> var. <i>olivaceum</i> Boresch	Boresch	
1462/3	<i>P. minnesotense</i> Tilden	Myers	Myers Tx. 7
B 1464/1	<i>Pseudanabaena catenata</i> Lauterb.	P	
B 1482/2	<i>Tolypothrix distorta</i> Kütz. var. <i>symplocoides</i> Hansgirg		Utrecht P. 39

## Übrige FLAGELLATA ETC.

LB 1507/1	<i>Bodo</i> sp.	P	
LB 1515/1	<i>Cyanophora paradoxa</i> Korsh.	P	
B 1518/1	<i>Dimastigamoeba gruberi</i> (Schardinger)	P	(3 Stämme)

Klasse: CILIATA

No.	Species	Isoliert von	Bemerkungen
L 1630/1	<i>Glaucoma piriformis</i> (Ehrbg.) Maupas		mehrere Stämme verschiedenen Ur- sprungs
LB 1660/1	<i>Paramaecium bursaria</i> Ehrbg.	P, G	mehrere Stämme
LB 1660/2	<i>P. caudatum</i> Ehrbg.	P	
L 1677/1	<i>Spirostomum</i> (?) <i>teres</i> Clap. et Lach.	Chen	
L 1682/1	<i>Tetrahymena geleii</i> Furgason		aus dem Inst. Pasteur, Paris

Klasse: BRYOPHYTA

Ordnung: Musci.

1802/1	<i>Aulacomnium androgynum</i> (L.) Schwaeg.	P	
1805/1	<i>Buxbaumia aphylla</i> L.	Keil	aus Prag
1805/2	<i>B. indusiata</i> Brid.	Keil	aus Prag
1807/1	<i>Ceratodon purpureum</i> (L.) Brid.	P	
1813/1	<i>Funaria hygrometrica</i> (L.) Sibth.	P	
1817/1	<i>Haplodon</i> sp.	Stosch.	
1822/1 a	<i>Leptobryum pyriforme</i> (L.) Schpr.	P	
1822 b/1	<i>L.</i> „	P	
1822/2	<i>L.</i> „	P	bivalenter Stamm von Wettstein
1822/3	<i>L.</i> „	P	univalenter Stamm
1837/1	<i>Schistostega osmundacea</i> Mohr	Keil	aus Prag
1838/1	<i>Sphagnum squarrosum</i> Pers.	Keil	aus Prag
1838/2	<i>S.</i> sp.	Lhotsky	aus Prag
1839/1 a	<i>Splachnum ampullaceum</i> L.	Keil	aus Prag ♂ Stamm
1839/1 b	<i>S.</i> „	Keil	aus Prag ♀ Stamm
1839/2 a	<i>S. sphaericum</i> L.	Keil	aus Prag ♂ Stamm
1839/2 b	<i>S.</i> „	Keil	aus Prag ♀ Stamm

Ordnung: Hepaticae.

B 1862/1	<i>Fossombronia</i> sp.	P	
1868/1	<i>Haplomitrium Hookeri</i> (Sm.) Nees		aus Prag ♀ Stamm
1875/1	<i>Monoselenium tenerum</i> Griff.		aus Prag
1890/1	<i>Sphaerocarpus Donnellii</i> Aust.		aus Prag ♂ Stamm
1890/2	<i>H. europaeus</i> Lorbeer		aus Prag ♂ Stamm



(Botany School, University of Cambridge, England.)

## Über farblose Diatomeen.

Von

E. G. PRINGSHEIM.

(Eingegangen am 28. April 1950.)

Unter den Diatomeen stehen einer großen Zahl von Arten mit braunen Chromatophoren ganz wenige pigmentfreie gegenüber. Das allein ist schon eine bemerkenswerte Erscheinung, und eine ganze Anzahl weiterer Fragen drängen sich auf. Farblose Diatomeen sind aber seit RICHTERS (1909) Untersuchungen nicht mehr Gegenstand der Forschung gewesen bis auf eine Mitteilung WAGNERS (1934), die sich vorwiegend mit den Bewegungserscheinungen befaßt. Eine Nachprüfung und Ergänzung schien deshalb wünschenswert.

Die farblosen Diatomeen wurden von COHN (1854, S. 133) als erste apochlorotische Parallelformen von sonst gefärbten Mikroorganismen entdeckt. Er nannte die von ihm beobachtete Form *Synedra putrida*. Welchen Arten die von LANZI (1885), MIQUEL (1892) und PROVAZEK (1900) beobachteten farblosen Diatomeen angehörten, ist nicht mit Sicherheit festzustellen. In de TONIS (1889—1907) Sylloge Algarum werden die farblosen Diatomeen nicht erwähnt. BENECKE (1900), der einzige, der sich eingehender mit ihrer Morphologie beschäftigt hat, unterscheidet drei Arten und findet, daß COHNS *Synedra putrida*, ebenso wie PROVAZEKS *Synedra hyalina*, gleich den von ihm selbst beobachteten zwei Formen zu *Nitzschia* zu rechnen sind.

Nach BENECKE (1900, S. 535/36) hätten wir also *Nitzschia hyalina* (PROVAZEK) n. comb., Länge 37—40  $\mu$ ; *N. putrida* (COHN) n. comb., Länge 60—70  $\mu$ , max. 100  $\mu$ ; *N. leucosigma* BENECKE, Durchschnitt 100  $\mu$ , max. 136  $\mu$ . In einer Anmerkung (S. 544) sagt BENECKE: „Falls PROVAZEK dieselbe Art beobachtet hat, die ich *Nitzschia putrida* nenne, so hat er nur sehr kleine Zellen vor Augen gehabt.“ Die beiden bei Kiel gefundenen Arten sind nach BENECKE durch die Gestalt verschieden; die größere und seltenere *N. leucosigma* ist leicht doppelt gekrümmt und gehört somit zur Gruppe der *Nitzschiae signatae*, während die gerade *N. putrida* zur Gruppe der *Nitzschiae dissipatae* zu rechnen ist. Andere Unterschiede zwischen den beiden Arten waren nicht zu finden (BENECKE, S. 545).

KARSTEN (1901) hat *N. putrida* in Neapel gefunden, außerdem gefärbte Arten, die in faulenden Lösungen im Dunkeln ein Zurückgehen der Chromatophoren an Größe und Pigmentgehalt aufwiesen, wie das vorher BENECKE (1900) gezeigt hatte. KARSTEN (S. 414) betont aber: „In keinem Falle ist es mir gelungen, ein völliges Verschwinden der Chromatophoren zu erzielen“, während bei *N. putrida* er so wenig wie BENECKE (S. 548, 558) Chromatophoren oder Leukoplasten entdecken konnte.

Bei HUSTEDT (1930, S. 163) findet sich ein Absatz über pigmentfreie Diatomeen, worin er sagt: „Farblose Chromatophoren lassen sich bei manchen Diatomeen beobachten.“ Das scheint aber nur ein Versehen zu sein, denn Leukoplasten sind nie gefunden worden, und HUSTEDT sagt auf derselben Seite: „Besonders wichtig

war seine (BENECKES) Feststellung von dem völligen Mangel an Chromatophoren bei diesen Arten.“ HUSTEDT führt *N. putrida* und *N. leucosigma* als farblose Arten auf, nicht aber *N. hyalina*. MILLS (1934) betrachtet *N. putrida* Benecke als synonym mit *Synedra putrida* Cohn und *S. hyalina* Provazek, ohne *N. leucosigma* zu erwähnen.

Die Formen, die RICHTER (1909) und WAGNER (1934) von Triest bzw. Helgoland bekamen, und von denen ich die letztere, dank der Freundlichkeit von Prof. E. KÜSTER, zu vergleichen Gelegenheit hatte, gehörten zu *N. putrida*. Ebenso alle meine Kulturen aus Material von Triest, Helgoland, von der englischen Westküste, von Plymouth, Dublin und von der irischen Westküste (vgl. S. 20). Obgleich die Gestalt der großen Zellen durch ihre Schlankheit von der der kleineren abwich, wie das auch schon RICHTER (1909, S. 726) gefunden hatte, so waren gebogene nicht darunter. Während die von BENECKE bemerkten Größenunterschiede keine systematische Bedeutung haben müssen, weil ja jeder Klon allmählich an Größe zurückgeht, und auch die für *N. leucosigma* von ihm gemessenen kleinsten Längen bei *N. putrida* erreicht werden, so bleibt doch der Artunterschied bestehen. *N. leucosigma* scheint nicht wieder beobachtet worden zu sein, ebensowenig weitere apochlorotische Diatomeen.

RICHTER (1909) war der erste, der farblose Diatomeen mit einem gewissen Erfolg rein züchtete. Das war damals eine bemerkenswerte Leistung, obgleich die Reinigung bei *N. putrida* besonders leicht ist. Durch ihre lebhafte, wenn auch die der braunen Diatomeen nicht übertreffende, Gleitbewegung (BENECKE, S. 541) kriechen die Zellen auf einem geeigneten Agarnährboden von der Impfstelle fort und reinigen sich dadurch selbst. RICHTER hat neben physiologischen auch morphologische Feststellungen gemacht. Er beschreibt Wuchsformen, denen er Varietätennamen gibt, findet schalenlose Zellmassen, die er als Plasmodien bezeichnet und stellt ein Gesetz der Volumkonstanz auf. Gegen alles das wendet sich mit Recht GEITLER (1932, S. 183—85). Wenn er aber hinzufügt: „RICHTERS Untersuchungen galten hauptsächlich ernährungsphysiologischen Problemen und sind in dieser Hinsicht einwandfrei“, so konnte ich ihm schon nach dem Lesen der Arbeit nicht zustimmen, und kann es noch weniger, seit ich selbst Ernährungsversuche angestellt habe. Allerdings waren zur Zeit von RICHTERS Versuchen die Kenntnisse über Wuchsstoffe nicht vorhanden, die heute für viele Versuche eine andere als seine Erklärung nahelegen; aber viele seiner Schlüsse waren schon damals nicht durch Versuche belegt und sehr unklar formuliert.

Im Gegensatz zu manchen anderen apochlorotischen Algen sind farblose Diatomeen leicht als solche zu erkennen und können sogar zu einer bestimmten Gattung und innerhalb dieser zu einer engeren Gruppe gestellt werden. In bezug auf die Ernährung ist dagegen ein Vergleich mit braunen Diatomeen nicht möglich, da keine der letzteren je heterotroph zur Vermehrung gebracht worden ist. Die Wiedergabe der experimentellen Ergebnisse in der zusammenfassenden Literatur ist zuweilen irreführend. OLTMANN<sup>1</sup> (1923) gibt an, daß braune Diatomeen saprophytisch im Dunkeln leben können. Er kann sich dabei höchstens auf die Versuche von BENECKE (1900) und KARSTEN (1901) stützen, die aber wegen der starken Fäulnis schwer zu beurteilen sind und eigentlich nur die Reduktion der Chromatophoren sicherstellen. Im ganzen macht es den Eindruck, als ob die meisten Diatomeen photoautotroph wären. Falls ambitrophe Arten existieren, so müßten sie

<sup>1</sup> Seine Darstellung der Ernährungsphysiologie der Algen ist mangelhaft. Die Masse der verarbeiteten Literatur ist keine Entschädigung. Er scheint Glucose und Glykose für verschieden zu halten (S. 191), verwechselt Amine und Amide (S. 194) und behauptet, daß *Chlorella protothecoides* und *Chlorothecium saccharophilum* farblos seien.

wohl bei den kleinen *Navicula*- und *Nitzschia*-Arten gesucht werden, die oft an Standorten mit sich zersetzenden organischen Stoffen leben. Die von MIQUEL (1892/93), RICHTER (1906, 1909), MEINHOLD (1911), SCHRAMM (1914) und KUFFE-RATH (1919) rein kultivierten Arten sind zwar auf die Förderung durch organische Stoffe hin geprüft worden, ohne daß aber selbst für die bestuntersuchten Arten, wie *Nitzschia dissipata*, *N. palea* und *Navicula minuscula* (RICHTER), eine einigermaßen befriedigende Einsicht in die Ernährungsweise erzielt oder Vermehrung im Dunkeln erreicht worden wäre. Seit diesen als Vorarbeit wertvollen Veröffentlichungen scheint nichts Neues hinzugekommen zu sein (BOLD 1942, S. 117).

### A. Verbreitung.

*Nitzschia putrida* ist meist von *Fucus* isoliert worden. Es war von Interesse, festzustellen, ob bestimmte *Fucus*-Arten oder andere Tange bevorzugt werden, und auf welchen *N. putrida* überhaupt vorkommt. Dank dem großen Entgegenkommen verschiedener Kollegen, insbesondere von Prof. DIXON und von Dr. M. DE VALERA, die mir mehrmals eine größere Anzahl von ausgewählten und bestimmten Proben zuschickten, war ich in der Lage, dieser Frage nachzugehen; die felsigen Teile der Küste von Irland sind reich an Rot- und Braunalgen. Auf *Fucus serratus*, den ich an der englischen Ostküste und der irischen Westküste auch mehrmals selbst gesammelt habe, wurde stets die farblose Diatomee gefunden. In zweifelhaften Fällen und zur Gewinnung einer größeren Anzahl von Stämmen wurden Kulturen angesetzt, indem kleine Stückchen der Tange auf Agar mit Seewasser und 0.2% Fleischextrakt gebracht wurden, worauf die Diatomeen sich zu vermehren und auf die freie Agaroberfläche auszukriechen pflegen.

### Herkunft des Materials.

I. von Prof. H. H. DIXON (School of Botany, Trinity College, Dublin): *Fucus serratus*, 1. Nov. 1946, 2. Nov. 1946, 3. Dez. 1946.

II. von Mr. G. A. DRURY (Department of Zoology, University of Cambridge): *Fucus serratus* von Plymouth, 1. Nov. 1946, 2. Dez. 1946, 3. Febr. 1947.

III. Selbst gesammelt in Galway, Westküste von Irland: *Fucus serratus*, 1. August 1946, 2. August 1946.

IV. Von Dr. M. DE VALERA (Department of Botany, University College, Galway, Eire), November 1946: 1. *Fucus ceranoides*; 2. *F. ceranoides*; 3. *Fucus vesiculosus*; 4. *F. ceranoides*; 5. *Ascophyllum nodosum*; 6. dasselbe; 7. *Laminaria digitata*; 8. *Fucus spiralis*; 9. *Fucus vesiculosus*; 10. *Fucus ceranoides*; 11. *Fucus serratus*; 12. *Pelvetia caniculata*; 13. *Rhodomenia palmata* (auf *Fucus serratus*); 14. *Fucus serratus*; 15. *Laminaria saccharina*; 16. *Himanthalia lorea*; 17. *Laminaria digitata*; 18. *Fucus vesiculosus*; 19. *Fucus serratus*; 20. *Pelvetia caniculata*; 21. *Laminaria saccharina*; 22. *Himanthalia lorea*; 23. *Desmarestia ligulata*; 24. *Saccorhiza bulbosa*.



Von allen diesen Proben DE VALERAS haben nur: 2, 8, 11, 12, 14, 19 und 20 farblose Diatomeen geliefert, die sich alle als *Nitzschia putrida* herausstellten. Es sind also vorwiegend *Fucus serratus* und *Pelvetia caniculata*, die dort von *N. putrida* bewohnt werden, während sie auf den anderen *Fucus*-Arten weniger regelmäßig vorkommt. Die übrigen Tange, sowie Schlammproben ergaben nichts. Doch hat PROVAZEK (1900) die Art auf *Ulva*-Fetzen gefunden. RICHTERS Material stammte auch von *Fucus serratus*.

Im ganzen habe ich *N. putrida* zwölfmal auf *Fucus serratus*, je einmal auf *Fucus ceranoides* und *F. spiralis* und zweimal auf *Pelvetia caniculata* gefunden.

### B. Ernährung.

Um die Ernährung zu untersuchen, braucht man Reinkulturen. Es ist zweifelhaft, ob RICHTER solche besessen hat. Er scheint sich darauf verlassen zu haben, daß die Zellen, die aus der Impfmasse auskrochen, sogleich frei von anderen Organismen sind, was aber gewöhnlich nicht der Fall ist. Von einer Wiederholung des Reinigungsverfahrens sagt er nichts. Kulturelle oder mikroskopische Prüfungen auf Reinheit werden auch nicht erwähnt. Die Gegenwart von Amöben, die RICHTER für schalenlose Diatomeen hielt, und die sehr oft zusammen mit *N. putrida* aus den Impfmassen auf den Agar auskriechen, zeigt, daß keine verläßlichen Reinkulturen vorlagen.

Um solche zu erzielen, geht man am besten von einzelnen Zellen aus, die sich weit von der Impfstelle entfernt haben und beimpft damit neue Platten. Der erste Versuch (Mai 1934) mit Material von *Fucus* (spec.?) von Helgoland, auf dem *N. putrida* mikroskopisch zu erkennen war, sollte zeigen, welche Isolierungsmethode die beste ist. RICHTER hatte Objektträger benützt, an denen sich die Diatomeen festgesetzt hatten, und die er auf den Agar legte. Da diese Diatomee aerophil ist, wunderte ich mich nicht, daß die Methode sich nicht bewährte. Der Erfolg war hingegen sicher, wenn von dem *Fucus*-Schleim mit der Öse kleine Tupfen auf den Agar gemacht wurden. Ausstreichen oder im flüssigen Agar verteilen gibt selten ein gutes, reines Wachstum, weil die Diatomeen dann nicht genug Spielraum haben, sich auszubreiten. Für die Isolierung war 1,5% Agar mit künstlichem Seewasser (KÜSTER 1913, S. 15, PRINGSHEIM 1946, S. 28) ohne weitere Beimischungen sehr geeignet. Ein Zusatz von *Fucus*-Extrakt (RICHTER 1909, KÜSTER 1913, S. 117, WAGNER 1934) vermehrte nur das Bakterienwachstum ohne die Diatomeen zu fördern. Was die Temperatur anbelangt, so war bei 22° und 25° die Entwicklung schneller als bei Zimmertemperatur von 18—19°, was in keinem Widerspruch zu RICHTERS (1909, S. 701) Erfahrungen steht.

RICHTERS Ernährungsversuche wurden mit Agarplatten durchgeführt. Mit flüssigen Nährlösungen hatte er nicht viel Erfolg. Agar hat den Vorzug, daß die Vermehrung gut zu beurteilen ist. Die Diatomeen breiten sich schleierartig, kreisförmig aus (RICHTER, Taf. 3, Fig. 8). Auch auf Schrägagar ist das Wachstum gut zu verfolgen und kann dicht werden. Zu Ernährungsversuchen kann aber Agar nicht immer, und jedenfalls nur mit Vorsicht, verwendet werden, weil im Agar enthaltene Stoffe zur Ernährung genügen. Die „positiven Auxanogramme“, die RICHTER (S. 692) ankündigt, wären deshalb nützlich gewesen, sind ihm aber nicht gelungen. Durch aseptische Füllung von Löchern in Seewasser-Agarplatten konnte ich nachweisen, daß Pepton Vaillant, Fleischextrakt, Proteosepepton fördern, Natriumacetat und Glucose dagegen nicht.

In Lösungen kann man Vermehrung erzielen, wenn Eiweißabbauprodukte zu Seewasser gefügt werden. Die Beurteilung der Ergebnisse von Kulturen in Flüssigkeiten ist unsicherer als die von Agarplatten. Schon die ersten Versuche von 1934 mit *Nitzschia putrida* von Helgoland zeigten aber deutlich, daß in Lösungskulturen weder Glucose, noch die von RICHTER empfohlenen Polysaccharide Inulin und Dextrin mit Nitrat- oder Ammonstickstoff in Seewasser Vermehrung erlaubten und in Peptonkulturen auch nicht förderten. Auch Acetat tat es nicht. Da keine brauchbare C-Quelle gefunden wurde, war es auch nicht möglich, die von RICHTER behauptete Brauchbarkeit anorganischer N-Quellen zu prüfen. Eine gute Vermehrung trat ein mit Käse-Abkochung, Biokleïn (Malzpräparat) und Pepton aus Fleisch von Vaillant, Paris, wobei Natriumacetat etwas förderte, nicht aber die geprüften Kohlenhydrate. Nur im Gegenwart von Eiweißabbauprodukten trat also in Lösungen Vermehrung ein. Die späteren, umfangreichen Versuchsreihen haben dazu nichts wesentlich Neues hinzugefügt.

Im Gegensatz zu RICHTER (1909) und WAGNER (1934) konnte ich keine Hydrolyse des Agars durch *N. putrida* beobachten. Man sieht auf der Agaroberfläche die Kriechspuren der Diatomeen, die sich verzweigen, wenn die Zellen sich teilen. Sie liegen aber nicht tiefer als die Umgebung, sondern sind ein klein wenig erhaben und bestehen aus einem von den Zellen ausgeschiedenen Schleim. Selbst ganz alte Schrägagarkulturen weisen keine Vertiefungen auf, obgleich die Diatomeen in den Agar eindringen, wie bei Betrachtung von der Seite zu sehen ist. In aufrecht erstarrten Röhrchen, gleich, ob die Diatomeen durch Stich oder Verteilung im flüssigen Agar eingimpft worden sind, vermehren sie sich nur nahe der Oberfläche. Das erklärt, warum auch für Flüssigkeitskulturen Reagensgläser nicht sehr geeignet sind, und die Vermehrung in flacher Schicht merklich besser ist. Das Sauerstoffbedürfnis von *N. putrida* ist eben ziemlich hoch. Auch wenn der Agar sehr dünn ist, z. B. 0,2–0,5%, so daß er nur ganz leicht gelatiniert und die Dia-

tomeen leicht eindringen können und sich stark vermehren, bleibt seine Konsistenz unverändert. Verflüssigung findet nicht statt.

Die Vermehrung der Diatomeen auf Agar ohne besonderen Zusatz organischer Verbindungen findet also auf Kosten der Eiweißverbindungen statt, nicht der Gelose, wie denn überhaupt Kohlenhydrate wie Glucose, Saccharose, Stärke, Inulin, Dextrin weder fördern noch angegriffen werden. Falls RICHTERS Angabe, daß Inulin und Dextrin das Wachstum verbesserten, auf richtiger Beobachtung beruhen, so ist diese Förderung auf Wuchsstoffe zurückzuführen, für die *N. putrida* sehr empfänglich ist, und die leicht von solchen kolloidalen Stoffen adsorbiert werden.

*N. putrida* ist recht anspruchslos in bezug auf die Menge der Nahrung. Sehr kleine Konzentrationen von Eiweißabbauprodukten, z. B. 0,05 % Fleischextrakt, dem Agar zugesetzt, fördern schon erheblich. Hefeextrakt (Difco) wirkt ungefähr ebenso, aber nicht ganz so gut. Mischungen von beiden haben keinen Vorteil. Yeastrel, ein Nährpräparat aus autolyzierter Hefe, ist ganz besonders günstig, z. B. in 0,2 %. Nicht alle Peptone sind gleich geeignet, Proteose-Pepton (Difco) ist z. B. nicht günstig, Bacto-Pepton (Difco) und Bacto-Tryptone (Difco), sowie Seiden-Pepton und das französische Pepton Vaillant sind ausgezeichnet. Die fördernde Wirkung von wenig (0,1—0,2 %) Fleischextrakt in verdünnten Pepton-Lösungen kann sehr auffallend werden, und es findet dann auch Vermehrung in Lösungen statt, die noch bei 0,1 % von beiden Stoffen optimal ist, während der als Zusatz zu Agar oder Peptonlösungen so günstige Fleischextrakt allein in Seewasser kaum Vermehrung erlaubt. Erdabkochung hat eine nur schwach fördernde Wirkung. Die Kulturen sind aber gesünder und halten sich besser. Natriumacetat, das einzige organische Salz, das geprüft wurde, macht die Vermehrung in Lösungen und Agar mit Eiweißabbauprodukten üppiger, ohne sie aber zu ersetzen, so daß mit Nitrat- oder Ammonstickstoff keine Vermehrung eintritt.

Die schon von RICHTER beobachtete Gelatineverflüssigung ist lebhaft. 8 % Gelatine in künstlichem Seewasser erlaubt gute Vermehrung. Nach 3—4 Tagen sieht man kleine Vertiefungen an den Impfstellen, von denen die Diatomeen auf die umgebende Gallerte auskriechen, wenn auch viel weniger als auf Agar. Nach einer Woche sind tiefe Löcher in der Gelatine entstanden. Ein Zusatz von 0,2 % Fleischextrakt hat keinen merklichen Einfluß; Wachstum und Verflüssigung sind ungefähr ebenso. Da beide Substanzen sauer sind und nicht neutralisiert wurden, zeigt das, im Gegensatz zu RICHTER, eine bemerkenswerte Widerstandsfähigkeit gegen saure Reaktion. RICHTERS Angabe, daß Glucose eine spezifische Hemmung auf die Gelatineverflüssigung ausübe, konnte gleichfalls nicht bestätigt werden. Da ein solcher Einfluß bei Bakterien



bekannt ist, schien die Beobachtung zunächst durchaus glaubwürdig. Ein Zusatz von 0,5 und 1 % Glucose zur Gelatine hemmt die Vermehrung und damit mittelbar die Verflüssigung. Wenn man aber ein paar Tage länger wartet, findet doch Wachstum und ganz entsprechend auch Verflüssigung statt. Milchagar wird aufgeheilt. *Nitzschia putrida* scheidet somit ein proteolytisches Enzym aus und macht sich dadurch unlösliche Eiweißstoffe zugänglich, wie das schon RICHTER angegeben hat.

Der von RICHTER beschriebene Ersatz von Seewasser oder einer diesem ähnlichen Salzmischung durch bloßes Kochsalz ist in der Tat, im Gegensatz zu den meisten Meeresorganismen, möglich. RICHTER fand ein Minimum bei 0,3 % und ein Maximum bei 6 %. Ich kann das bestätigen, wenn auch die Grenzen in meinen Versuchen unscharf waren. Von 0,5 bis 0,2 % fand ein allmählicher Abfall statt; bei 0,1 % trat nur selten eine ganz schwache Vermehrung ein. Die Grenzen für optimale Vermehrung lagen bei 2 und 4 %. Bei 5 % fand schon merklich schwächeres, bei 6 % ganz schwaches, bei 7 % kein Wachstum mehr statt.

Weiter auf RICHTERS Versuche einzugehen, hat nicht viel Wert. Sie sind ungeschickt ausgeführt und geschildert. Immer wieder findet man Widersprüche zwischen Versuchen und Schlußfolgerungen. Wenn auf seinem Agar mit Triester Meerwasser und Zusätzen eine schwache Entwicklung eintrat, hat er nicht durch Überimpfung auf den gleichen Nährboden geprüft, ob es sich nur um Verschleppung von Nährstoffen oder bloßes Auskriechen aus der Impfmasse handelte, wie überhaupt alle Versuche nur einmal angestellt worden zu sein scheinen. Über organische Ernährung berichtet er auf einundeinhalb inhaltsarmen und nicht sehr klaren Seiten. Die Darstellung der Versuche in den großen Tabellen ist so unübersichtlich, daß man nie sicher ist, ob man sie richtig liest. RICHTERS Buch (1911) klärt die Sachlage nicht.

### C. Größenverhältnisse.

Durch Herauszüchtung einer größeren Anzahl von Klonen, jeder aus einer anderen Materialprobe, wurde versucht, einen Einblick in die Größenverhältnisse von *Nitzschia putrida* in der Natur zu gewinnen. Da die Art so leicht zu isolieren ist, schien sie für diesen Zweck geeignet. Die Ergebnisse dürfen jedoch nicht mit solchen aus Messungen an natürlichen Populationen verglichen werden, da diese gewöhnlich nicht einheitlichen Ursprunges sein werden.

Bei Schlußfolgerungen aus den Befunden sind hingegen andere Einschränkungen zu machen. Die größten Zellen, die eben aus Auxosporen entstanden sind, müssen in der Natur selten sein; auf Klone mit der Maximalgröße ist deshalb kaum zu rechnen. Die ersten Messungen können ferner erst nach Heranwachsen der Klone, d. h. nach 2—3 Wochen, angestellt werden und müssen, nach den sonstigen Erfahrungen, um 1—2  $\mu$  zu kleine Längenmaße geben, verglichen mit den Zellen, von denen die Klone abstammten.

Tabelle 1. *Länge der Klone von Galway.*

Klon-Nummer	Länge in $\mu$	Klon-Nummer	Länge in $\mu$
13	62—63	9	25—27
14	59—60	10	25—26
7	49—52	19	24—25
8	42—43	5	22—24
17	39—40	12	20—21
6	38—39	15	20—21
11	34—35	18	18—19
16	26—27		

Die Tabelle, die die Längenmessungen wiedergibt, beruht auf 8—12 Messungen für jede Zahl. Da die Dimensionen in jungen und gesunden Kulturen, die auf eine Zelle zurückgehen, bemerkenswert einheitlich sind, genügt das. Die Maße sind kleiner als BENECKE (1900) sie fand, so daß nur die größten Klone seine Maße (60—76, maxim. 100  $\mu$ ) erreichen. Selbst unter Berücksichtigung der obigen Einschränkungen waren also die Diatomeen von Galway kleiner als die von der Kieler Förde, ja die kleinen Größenklassen überwogen. Selbst die von RICHTER (1909, S. 719—722; ,var. *gigas* 48  $\mu$ ) und von PROVAZEK (1900) und WAGNER (1934) angegebenen Dimensionen, nämlich 40  $\mu$  bzw. 30 und 60  $\mu$  würden, verglichen mit denen von Galway, noch zu den größeren gehören.

Im Anfang hatte es den Anschein, als ob bestimmte Längensklassen in der Natur bevorzugt wären, so wie es auch WAGNERS Angaben andeuten; eine größere Ausdehnung der Klon-Messungen aber zeigte eine stetige Verteilung über 20—63  $\mu$ , wobei jedoch die größten, wie zu erwarten, seltener waren, da sie vor nicht zu langer Zeit aus Auxosporen erwachsen sein müssen und sich bei der Teilung in der überwiegenden Zahl bald verkleinern müssen. Die Wahrscheinlichkeit, die größten Zellen anzutreffen, ist somit noch geringer als sie bei einer symmetrischen, statistischen Größenkurve ohnehin zu erwarten wäre.

In den Kulturen nahm die Länge dauernd, wenn auch nicht ganz regelmäßig, ab. Bei 62—63  $\mu$  Anfangslänge waren nach 4 Monaten 54—56, nach 18 Monaten 23—33  $\mu$  erreicht, bei 18—19  $\mu$  Anfangslänge 13—14 bzw. 11—12  $\mu$ . Das Minimum, dem sie zustrebten, war 10—11  $\mu$ . Kleinere Zellen wurden nie gefunden. Die anfangs größten Klone hatten dieses Minimum selbst nach 3 Jahren noch nicht erreicht.

Bemerkenswerterweise waren nach 18 Monaten die Hälfte der Klone kleiner als die kleinsten bald nach der Isolierung. Der Umstand, daß kein Klon von Anfang an so klein war, erklärt sich wohl, zum mindesten teilweise, aus der geringen Kriechfähigkeit dieser, geradezu verkümmert aussehenden Zellen (vgl. RICHTER, S. 762). Das muß zur Folge haben, daß aus einem Gemisch die größten, die am weitesten auskriechen, her-

ausgezüchtet werden, während die kleinen vernachlässigt wurden. Zusammen mit der oben erwähnten Ausschaltung der größten Zellen, wirkt das dahin, daß unter den Klonen die mittleren Dimensionen von  $25\text{--}30\ \mu$  bevorzugt erscheinen.

Wenn Klone sich der Minimalgröße nähern, so sehen die Kulturen anders aus als die mit großen Zellen. Während die letzteren sich gleichmäßig und schnell auf dem Agar ausbreiten und auf Agarplatten kreisförmige, lockere Kolonien bilden, die erst später dichter werden, sehen die Kulturen der kleinsten Klone klexig, fast wie Bakterien und Hefen, aus. Mikroskopisch fallen die Zellen durch ihre Plumpheit auf. Sie können in der Aufsicht fast quadratisch sein. Das Verhältnis von Länge zu Breite (und Dicke) ist bei den größten Zellen von  $60\ \mu$  Länge ungefähr  $9\text{--}10$ , bei den mittleren von  $35\ \mu$  Länge  $6\text{--}7$  und bei den kleinen von  $20\ \mu$  Länge  $5\text{--}6$ . Da nach der Isolierung die kleinsten Zellen weniger als  $\frac{1}{3}$  so lang waren als die größten, so war das Volumenverhältnis ungefähr  $\frac{1}{25}\text{--}\frac{1}{30}$ , während bei den kleinsten Kulturformen das Volumen höchstens nur noch  $\frac{1}{100}$  der großen war. Die Länge nimmt, wie bemerkt, mehr ab als die anderen Dimensionen, was wohl an der Schalenstruktur liegt. Auxosporenbildung hat offenbar in den Kulturen nie stattgefunden; sonst hätte man eine Größenzunahme erwarten müssen. Ob das an Heterothallie liegt, wurde nicht untersucht.

Eine Vermehrung bei gleichbleibender Länge, wie sie WIEDLING (1943) und VON DENFFER (1950) sowie frühere Autoren gefunden haben, scheint also bei *Nitzschia putrida* im Gegensatz zu anderen *Nitzschia*-Arten nicht stattzufinden.

### Zusammenfassung.

Nur eine farblose Diatomee wurde gefunden: *Nitzschia putrida* BENECKE. Diese kommt regelmäßig auf *Fucus serratus* vor, seltener auf anderen *Fucus*-Arten. Auch von *Pelvetia caniculata* konnte sie isoliert werden, aber von keinem anderen der untersuchten Tange.

In der Ernährung ist *N. putrida* auf Eiweißabbauprodukte angewiesen. Durch Kohlenhydrate wird sie nicht gefördert. Agar enthält genug Nährstoffe, um eine spärliche Ernährung zu erlauben.

Die Länge der Zellen in frisch isolierten Klonen schwankte zwischen  $18$  und  $63\ \mu$ , während sie in alten Kulturen, die oft übergeimpft worden waren, schließlich auf  $10\text{--}11\ \mu$  hinunter ging.

### Summary.

Only one colourless diatom could be found: *Nitzschia putrida* BENECKE. It occurs regularly on *Fucus serratus*, more rarely on other species of the genus. It could also be isolated from *Pelvetia caniculata*, but from none of the other sea-weeds investigated.



In its nutrition *N. putrida* depends on substances formed in the breakdown of proteins. Agar contains nutritive substances sufficient for a moderate multiplication. Carbohydrates do not improve growth.

The length of cells from newly isolated clones is between 18 and 63  $\mu$ , whereas after prolonged subculturing it eventually goes down to 10—11  $\mu$ .

### Literatur.

- BENECKE, W.: Über farblose Diatomeen der Kieler Förde. Jb. Bot. **35**, 535 (1900). — BOLD, H. C.: The cultivation of algae Bot. Rev. **8**, 69 (1942). — COHN, F.: Untersuchungen über die Entwicklungsgeschichte der mikroskopischen Algen und Pilze. Nov. Act. Acad. Leop. Carol. **24**, 103 (1854). — DENFFER, D. v.: Die planktische Massenkultur pennater Grunddiatomeen. Arch. f. Mikrobiol. **14**, 159 (1950). — GEITLER, L.: Der Formwechsel der pennaten Diatomeen (Kieselalgen). Arch. Protistenkde. **78**, 1 (1932). — HUSTEDT, F.: Die Kieselalgen. Rabenhorsts Kryptogamenflora. 1. Teil, Leipzig 1930. — KARSTEN, G.: Über farblose Diatomeen. Flora, Ergänzt.-Band **89**, 402 (1901). — KUFFERATH, H.: Notes sur la forme des colonies de Diatomées et autres algues cultivées sur milieu nutritif gélosé. Ann. Biol. lacustre **9** (1919) (nach KUFFERATH, H.: La culture des algues, Publication de la revue Algologique, Paris 1930). — KÜSTER, E.: Anleitung zur Kultur der Mikroorganismen, 2. Aufl. Leipzig und Berlin 1913. — LANZI nach HUSTEDT. — MEINHOLD, T.: Beiträge zur Physiologie der Diatomeen. Beitr. Biol. Pflanz. **10**, 353 (1911). — MILLS, F. W.: Index to the genera and species of the Diatomaceae and their synonymes. III. London 1934. — MIQUEL, P.: Recherches expérimentales sur la physiologie, la morphologie et la pathologie des Diatomées. Ann. Microgr. **4**, 273; **5**, 437 (1892/93). — OLTMANNS, F.: Morphologie und Biologie der Algen. III. Jena 1923. — PRINGSHEIM, E. G.: Pure Cultures of Algae. Cambridge 1946. — PROVAZEK, S.: Synedra hyalina, eine apochlorotische Bacillarie. Österr. bot. Z. **50**, 69 (1900). — RICHTER, O.: Zur Physiologie der Diatomeen I. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien. Math.-naturwiss. Kl. **115**, 27 (1906); II. Die Biologie der Nitzschia putrida Benecke. Denkschr. Akad. Wiss. Wien. Mat. Nat. Kl. **84**, 657 (1909); Über die Notwendigkeit des Natriums für braune Meeresdiatomeen. Sitz. Ber. Akad. Wiss. Mat. Nat. Kl. **118**, 1337 (1909); Die Ernährung der Algen. Monographien und Abhandlungen. Internat. Rev. d. Hydrobiol. **2**, Leipzig 1911. — SCHRAMM, J. R.: Some pure culture methods in the algae. Ann. Mo. Bot. Gdn. **1**, 23 (1914). — DE TONI, G. B.: Sylloge algarum omnium huiusque cognitarum. II. Bacillariaceae (1889—07). — WAGNER, J.: Beiträge zur Kenntnis der Nitzschia putrida Benecke, insbesondere ihrer Bewegung. Arch. Protistenkde. **82**, 86 (1934). — WIEDLING, S.: Die Gültigkeit der MacDonald-Pfitzerschen Regel bei der Diatomeengattung Nitzschia. Naturwiss. **31**, Heft 9/10 (1943).

(Aus der Süddeutschen Versuchs- und Forschungsanstalt für Milchwirtschaft in Weihenstephan).

## Zum Problem der aktivierenden Wirkung subletaler Hitze auf Bakteriensporen.

Von

L. von GAVEL.

Mit 7 Textabbildungen.

(Eingegangen am 6. Juni 1950.)

CURRAN und EVANS berichteten 1945 über die deutlich aktivierende Wirkung kurzer Hitzebehandlung bei thermotoleranten und thermophilen aeroben Sporenbildnern. Erhitzten sie die Sporensuspensionen ihrer Versuchsstämme 10 min lang auf 95° C, so konnten sie in den mit erhitzten Sporen beimpften Kulturplatten bis 10, ja in besonderen Fällen sogar bis 16mal soviel Kolonien feststellen als in den Kulturen der unerhitzten Kontrolle. Das heißt, ohne Hitzeschock keimte nur ein Bruchteil der überhaupt vorhandenen Sporen aus! Mit dieser schönen Beobachtung hat das in der Praxis längst als vorteilhaft bekannte Vorwärmverfahren seine Erklärung gefunden, und der Einfluß der Pasteurisationstemperaturen auf die Aktivität der in jeder Milch unvermeidlich auftretenden Sporenbildner wird in besonderen Versuchen der Autoren deutlich.

Die praktische Bedeutung der Befunde ist ohne weiteres einleuchtend. Ihre theoretische Erklärung aber als echte Hitzeaktivierung von sonst in Keimruhe, im Zustand der sogenannten „dormancy“ verharrenden Sporen ist in der amerikanischen Literatur angezweifelt worden. Auf Grund ihrer eigenen Erfahrungen mit *Clostridium botulinum*, dessen in Versuchen immer wieder störend auftretende Keimträgheit sich als durch das Kulturmedium bedingt erwies und durch Zusatz von Kohle oder Stärke aufgehoben werden konnte<sup>1</sup>, vermuten FOSTER und WYNNE, daß es sich auch im Falle der aeroben Sporenbildner um eine Veränderung des Suspensionsmittels unter dem Einfluß der Hitze handeln könnte. Es finden sich in der Arbeit von CURRAN und EVANS (Tab. S. 338). Daten, die zu diesem Schluß herausfordern

Das Ausmaß der Aktivierung ist sehr verschieden, je nachdem in welchem Suspensionsmittel erhitzt wird. Aufschwemmungen in

<sup>1</sup> REYNOLDS u. LICHTENSTEIN geben allerdings auch für *Cl. botulinum* Hitzeaktivierung an.

0,5% igen Pepton- oder Glucoselösungen keimten z. B. wesentlich besser als die einfachen Wassersuspensionen. (Allerdings schwimmen diese Unterschiede wieder bei höheren Bebrütungstemperaturen.) Leider fehlen direkte Sporenzählungen, so daß das absolute Ausmaß der Keim-anregung nicht festzustellen ist (vgl. hierzu WYNNE und FOSTER).

Unter unseren aus Molkereiprodukten isolierten Sporenbildnern fand sich nun ein *Subtilis*-Stamm, dessen Sporen durch hohe Temperaturen so auffällig aktiviert wurden, daß er für Versuche zur Klärung der Hitzewirkung geeignet erschien.

### Methode.

Das Sporenmaterial für die Versuche wurde durch Abspülen alter Kulturplatten gewonnen. Verwendet man diese erst dann, wenn der Agar einzutrocknen beginnt, so ist die gewonnene Suspension fast frei von vegetativen Zellen.

Da beim Abspülen beträchtliche Mengen Nährstoffe, vor allem Zucker, in Lösung gehen, wurden die Sporen mehrfach abzentrifugiert und mit destilliertem Wasser ausgewaschen, bis die FEHLINGSche Probe vollkommen negativ ausfiel.

Nach dem letzten Zentrifugieren erfolgte noch ein Filtrieren der Sporenaufschwemmung, das alle möglicherweise vorhandenen verklumpten Sporen entfernte. Sehr gut brauchbar waren dazu die Vorklärschichten der Firma SCHLEICHER und SCHÜLL. Die mikroskopische Kontrolle zeigt in so behandeltem Material ausschließlich Einzelsporen.

Im Vorversuch mit erhitztem und unerhitztem Material wurde die jeweils günstigste, ein bequemes Auszählen ermöglichende Verdünnung für den Versuch festgestellt. In manchen Serien wurde auch die Keimzahl direkt bestimmt. Dabei erwies sich das Auszählen nach der BREEDSchen Methode als zuverlässiger als die Beobachtung in der Blutzählkammer, da in der letzteren die Sporen außerordentlich leicht von kleinen Verdunstungsströmungen erfaßt und an einzelnen Stellen zusammengeschwemmt werden. Bestreicht man die Zählquadrate vor dem Aufbringen von 0,01 cm<sup>3</sup> Sporenlösung mit Eiweißglycerin, so verteilen sich die Sporen gleichmäßig über die ganze Fläche und haften vorzüglich. Eine einfache Methylenblaufärbung läßt auf dem blauen Grund des angefärbten Eiweißes die Sporen als stark lichtbrechende helle Pünktchen deutlich hervortreten. Allerdings muß vorher das Trocknen sehr langsam und sorgfältig erfolgen.

Das Erhitzen während der Versuche geschah im Wasserbad und zwar in dünnwandigen Reagenzröhrchen, die ein rasches Aufwärmen ermöglichten. Die Erhitzungsdauer wurde von dem Augenblick an gemessen, in dem ein Thermometer im beigefügten Kontrollröhrchen die gewünschte Temperatur erreicht hatte. Nach Ablauf der Erhitzungszeit wurde sofort gekühlt. Eine leichte Verschiedenheit der Aufheizzeiten bei Versuchen mit mäßigen und mit hohen Temperaturen mußte als unvermeidlicher Versuchsfehler in Kauf genommen werden.

Das Abimpfen in PETRI-Schalen erfolgte immer möglichst bald nach dem Erhitzen vor allem dann, wenn es sich in besonderen Fällen um Suspensionen mit Nährstoffzusatz handelte, weil die Vermehrung schlagartig eintreten und den ganzen Versuch verderben kann. Auch der Agar muß gut abgekühlt sein und rasch erstarren.

Als Nährboden diente Dextroseagar. Bebrütet wurde im Thermostaten bei 37° C.

Das zögernde und erst im Laufe langer Zeiträume vollständige Keimen der Sporen, wie es bei *Clostridium botulinum* zu beobachten ist, hat sich beim vorliegenden Objekt nie gezeigt. Ein zuverlässiges Auszählen der Platten war schon nach 48 Std möglich. Nach dieser Zeit ließ sich keine Zunahme der Kolonienzahl mehr



feststellen. Der Unterschied zwischen den nach 24 und nach 48 Std beobachteten Zahlen war so gering, daß vor allem in größeren Vergleichsserien, in denen es weniger auf die absoluten als auf die relativen Zahlen ankam, schon nach 24 Std bewertet werden konnte.

In allen Versuchen wurden 5 Kulturplatten von jeder Versuchsstufe angelegt. Jeder Versuch ist mindestens einmal wiederholt worden.

### Versuche.

Abb. 1 veranschaulicht das geradezu verblüffende Zunehmen der Bakterienkolonien in den Kulturplatten nach kurzer Hitzebehandlung der Sporensuspension.

Von der in der gewählten Verdünnungsstufe vorhandenen Sporenmenge ist ohne oder mit schwacher Hitzebehandlung nur ein kleiner Teilausgekeimt. Hätte es sich

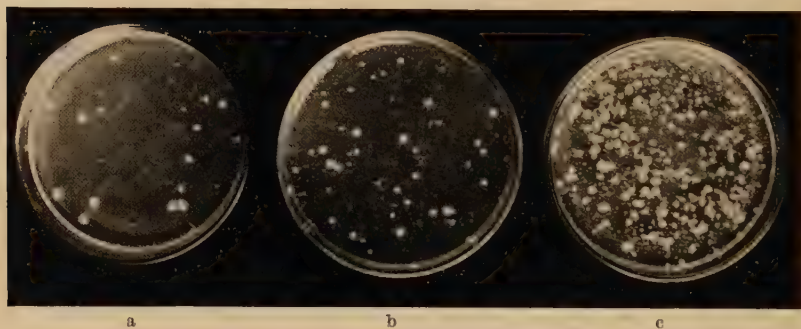


Abb. 1. Durch Hitzewirkung gesteigerte Keimfähigkeit der Sporen einer Suspension. Verdünnung 1:10000. Die auf die Platten geimpfte Suspension war: a) unerhitzt, b) 1 min auf 70° C erhitzt und c) 1 min auf 100° C erhitzt.

hier um eine praktische Analyse gehandelt, so wäre bei einer zahlenmäßigen Auswertung ohne vorheriges Erhitzen ein vollkommen falsches Bild von der tatsächlich vorhandenen Infektion zustandegekommen.

Die Aufnahme stammt aus dem in Abb. 2 kurvenmäßig dargestellten Versuch, in dem das Sporenmaterial je 1 min lang verschieden hoch erhitzt wurde. Da — wie eingangs bemerkt — das Erwärmen in doppelt destilliertem und vor dem Versuch noch einmal ausgekochtem Wasser erfolgte, an dessen Konsistenz die Hitze nichts verändern konnte (eventuell vom Glas abgegebene Substanzen mußten durch das Auskochen schon von vornherein darin enthalten sein), kann der beobachtete Effekt nur auf einer direkten Beeinflussung der Sporen selbst beruhen. Diese erweisen sich als außerordentlich unterschiedlich bezüglich ihrer Keimbereitschaft. Offensichtlich ist wirklich der größte Teil von ihnen nicht fähig, ohne Hitzeschock in dem an sich optimalen Milieu des Dextrosenährbodens auszuwachsen. Am Vorliegen einer echten Keimträgheit, einer „dormancy“, wie CURRAN und EVANS sie annehmen, die erst durch Außeneinflüsse überwunden werden muß, ist demnach nicht zu zweifeln.

Auffällig ist es, wie verschieden hoch die Reizschwelle für die Sporen einer Suspension liegt. Während 740000 schon bei Zimmertemperatur keimten, brauchten weitere 300000  $64^{\circ}\text{C}$ , weitere 310000  $75^{\circ}$  und weitere 680000  $80^{\circ}$ , um auswachsen zu können. Über  $90^{\circ}$  wurde die Zahl der noch zusätzlich erregbaren Keime wieder kleiner. Faßt man Abb. 2 als Summenkurve auf und liest die jeder Temperaturerhöhung um  $5^{\circ}$  entsprechende Zunahme der Kolonienzahl ab, so erhält man eine klare Variationskurve, deren Gipfel zwischen  $80^{\circ}$  und  $90^{\circ}\text{C}$  liegt. Das anscheinend unvollständige Abbrechen der Kurve bei  $98^{\circ}$  sowie die Tat-

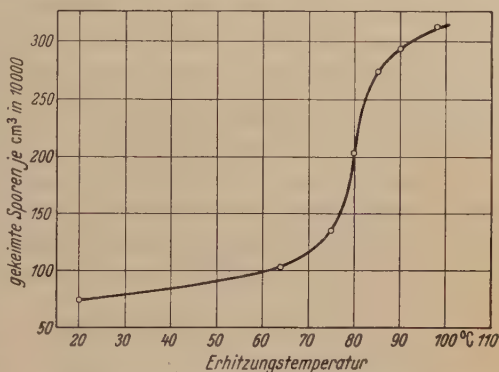


Abb. 2. Abhängigkeit der Kolonienzahl von der Höhe der Erhitzungstemperatur. Erhitzungsdauer jeweils 1 min.

sache, daß in der Suspension rund 350 Millionen Keime je Kubikzentimeter vorhanden waren, während im Höchstfall nur 314 Millionen Kolonien entstanden, spricht dafür, daß eine Minute lang wirkende Siedehitze einfach nicht ausreicht, um die am stärksten gehemmten Sporen in den keimfähigen Zustand überzuführen. Der hemmende Faktor, der bei der Überzahl von Sporen innerhalb einer min von etwa  $85^{\circ}$  zu überwinden ist, wird vermutlich während seiner Ausbildung von einer großen Zahl verschiedener Einflüsse gefördert oder gehemmt, so daß sowohl erheblich keimwilligere wie erheblich keimträgere Sporen entstehen.

Drückt man das Maß der Aktivierung als Vielfaches der bei Zimmertemperatur keimenden Sporen aus, so gewinnt man ein recht unzuverlässiges Bild von den vorliegenden Tatsachen, denn gerade die Extremvarianten werden stark von Außeneinflüssen wie Alter und Trockenheit und von der Entstehungsgeschichte der Sporen abhängig sein. So ergaben z. B. die Nachkommenschaften zweier isolierter Kolonien, die aus 2 verschiedenen  $\text{pH}$ -Versuchen stammten, ganz unterschiedliche Verhältnisse zwischen den bei  $60^{\circ}$  und den nach kurzem Aufkochen aktivierten Keimen, während bei beiden wie gewöhnlich die wirksamste Temperatur zwischen  $80^{\circ}$  und  $90^{\circ}\text{C}$  lag.

Da beide Versuchsgefäße, wie es bei derartigen Vergleichsversuchen immer der Fall war, genau gleichzeitig ins erhitzte Wasserbad und ins Kühlwasser gesetzt wurden, ist ein die Verhältnisse verschiebender Fehler ausgeschlossen.

Daß die Aktivierung bei den Nachkommen von Kolonie II fast doppelt so groß erscheint, kann sowohl daran liegen, daß unter den Nachkommen

von Kolonie II besonders wenig spontan keimwillige Sporen gebildet wurden, wie daran, daß die Sporen des anderen Stammes bei Siedehitze nicht vollständig auskeimten.

Tabelle 1. *Unterschiedliche Keimwilligkeit und deren Steigerung bei den Nachkommen zweier, aus verschiedenen Kulturen stammender Kolonien.*

Suspension erhitzt auf	Kolonienzahl der Nachkommen von	
	Kolonie I	Kolonie II
A) 60° C	73,4	27,8
B) 98° C	495,4	324,0
Verhältnis A : B	1 : 6,7	1 : 11,7

Während der Gesamtdauer der hier besprochenen Versuche ist das Material merklich gleichmäßiger geworden. Die wirksamste Temperatur, bei der die meisten Sporen keimten, blieb ständig um 85°. Das Verhältnis zwischen den ungehemmten und den insgesamt aktivierbaren Sporen aber wurde immer kleiner. Während letztere zu Anfang 20 mal so zahlreich sein konnten, war in der letzten Zeit meist nur mit der 4—5fachen Kolonienzahl in den Kulturplatten stark erhitzter Suspensionen zu

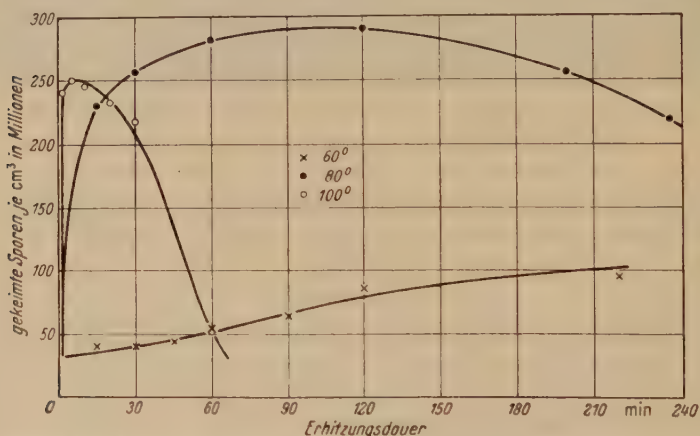


Abb. 3. Einfluß von Erhitzungsdauer und Erhitzungsintensität auf die Keimfähigkeit der Sporen.

rechnen. Vielleicht ist dadurch, daß zur Gewinnung neuen Versuchsmaterials immer die am höchsten erhitzten Versuchsstufen verwendet wurden, ein Ausschalten der weniger gehemmten und dabei hitzeempfindlicheren Formen erfolgt. Ob wirklich genetische Faktoren die Variationsbreite bestimmen, können natürlich nur Einzelsporenkulturen beweisen. Jedenfalls empfiehlt es sich, für Hitzereizversuche den nötigen Vorrat an Sporen von vornherein anzulegen, um über immer gleichmäßiges Material zu verfügen.



Die in den Kurven der Abb. 3 zusammengefaßten Versuche ließen Temperaturen von 60°, 80° C und Siedehitze nicht nur als kurzen Schock, sondern während längerer Zeiträume auf die gleiche Sporensuspension einwirken. Offensichtlich summiert sich mit der Zeit die stimulierende Wirkung höherer Temperaturen. Wenn z. B. 80° genügend lange einwirken, wird auch die Keimträgheit derjenigen Sporen überwunden, die bei kurzfristiger Hitzewirkung erst von Siedehitze aktiviert werden konnten.

Der Vergleich der 80°- und der 100°-Kurve führt uns aber auch deutlich eine Fehlerquelle vor Augen, die bei derartigen Versuchen immer in Rechnung zu setzen ist: Die Wirkung größter Hitze erzielt auch bei etwas längerer Dauer nicht ganz soviel Kolonien wie die mildere Temperatur. Nach steilem Gipfel geht die Aktivierungskurve der Siedehitze

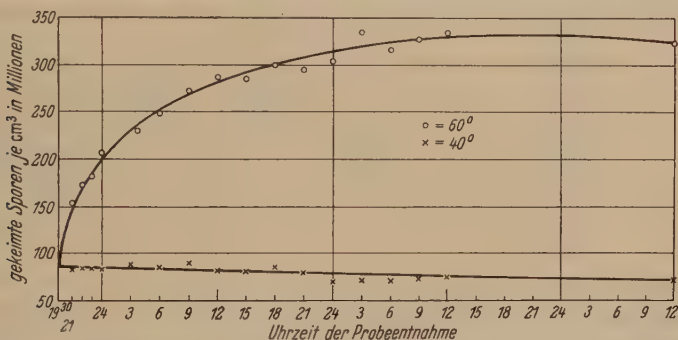


Abb. 4. Veränderung der Keimfähigkeit durch längeres Einwirken schwacher Hitze. Versuchsdauer 64 Std.

abrupt in eine Abtötungskurve über, während bei 80° erst nach etwa 2 Std die Schädwirkung spürbar wird. Es ist anzunehmen, daß gerade die wenig gehemmten Sporen hitzeempfindlicher sind und schon einzeln abzusterven beginnen, während andere noch einer zusätzlichen Hitzewirkung zu ihrer Aktivierung bedürfen. Innerhalb eines bestimmten Bereiches werden sich also die aktivierende und die abtötende Wirkung hoher Temperaturen überschneiden, da sie vermutlich auf 2 grundsätzlich verschiedenen Vorgängen beruhen. Nun ist nach den Ergebnissen von CURRAN und EVANS die Keimträgheit bei den verschiedenen Bacillen ungleich stark ausgeprägt, und die Wahl zu hoher Reiztemperaturen könnte unter Umständen die tatsächlich aktivierbare Sporenzahl gar nicht in Erscheinung treten lassen. Es wird sich immer empfehlen, mit kurzfristig wirkenden verschiedenen Temperaturen zunächst die optimal aktivierende Wärme festzustellen.

Weiter ergeben die Dauerversuche, daß die Geschwindigkeit, mit der die zur Enthemmung führenden Vorgänge ablaufen, deutlich temperaturabhängig ist. Während sich die 60°-Kurve

nur langsam hebt und offensichtlich bei Abschluß des Versuches noch nicht ihren Höhepunkt erreicht hat, steigt die 80°-Kurve schon innerhalb der ersten 20 min bis fast zu ihrem Gipfel auf, und die 100°-Kurve schnellst fast senkrecht empor. Je höher die angewendete Temperatur ist, um so rascher wird die Keimträgheit der Sporen überwunden.

Da die Dauer der ersten Zeitversuche nicht ausreichte, um zu entscheiden, ob bei entsprechend langer Wirkungszeit von 60° C auch die volle Sporenzahl aktiviert wird, wurde ein weiterer Versuch über 3 Tage ausgedehnt. Abb. 4 zeigt, daß vom 3. Tage an die 60°-Kurve horizontal verläuft, wenn sie nicht sogar anfängt, sich ganz leicht zu senken.

Kochte man aber nach 64 Std die Sporensuspension noch einmal kurz auf, so stieg darauf die Kolonienzahl um reichlich 20% an (Tab. 2). Bei einem beträchtlichen Teil der Keime reichten also 60° auch bei sehr langer Einwirkungsdauer nicht aus, um eine Enthemmung zu erzielen.

Tabelle 2. Die Anzahl aktivierter und inaktiver Sporen in einer bei 60° und 40° C gehaltenen Suspension.

Temp.	Zu Beginn des Versuches keimend	Nach 64 Std Erwärmung keimend	Nach anschließendem Kochen keimend	Differenz der maximalen Kolonienzahlen
60° C	87,4	323,2	417,8	181,4
40° C	87,0	72,4	599,2	

Allerdings kann man in diesem Fall schlecht beurteilen, wann die Schädigung der erhöhten Temperatur einsetzt; daß sie nicht unerheblich ist, merkt man, wenn man einen bei 40° C aufbewahrten und in seiner Keimstimmung nur innerhalb des Versuchsfehlers veränderten Teil der gleichen Suspension ebenfalls aufkocht. In den damit besickten Kulturplatten erscheinen erheblich mehr Kolonien.

Das langsame Absinken der 40°-Kurve in Abb. 4 liegt vermutlich an einem allmählichen Keimen der ungehemmten Sporen, die in dem völlig nährstofffreien Medium zugrundegehen müssen.

Brutschranktemperaturen von 48° C zeigten schon eine leicht aktivierende Wirkung. Unter ihrem Einfluß blieb die Kolonienzahl nicht wie sonst nach 36 Std konstant, sondern stieg langsam immer weiter an, so daß sich die Unterschiede der Erhitzungsversuche allmählich verwischten. Zu hohe Bebrütungstemperaturen sind also bei Versuchen zur Hitzeaktivierung als Fehlerquelle zu vermeiden.

Tabelle 3. Abweichende Ergebnisse in der Kolonienzahl durch verschiedene Bebrütungstemperaturen bei einer auf 60° C und 90° C erhitzten Suspension.

Bebrütungstemperatur	Erhitzungstemperatur		A : B
	60° (A)	90° (B)	
37°	24	253	1 : 10,5
48°	84	248	1 : 3,0

Die von CURRAN und EVANS beschriebene extreme Steigerung des Stimulationseffektes durch Zusatz organischer Stoffe wie z. B. Dextrose oder Pepton ließ sich im vorliegenden Fall durchaus nicht beobachten. Wenn die Lösungen gepuffert waren und bei der Sterilisation das  $p_H$  nicht veränderten, war die Hitzewirkung immer die gleiche. Abb. 5 zeigt einen Versuch unter Zusatz

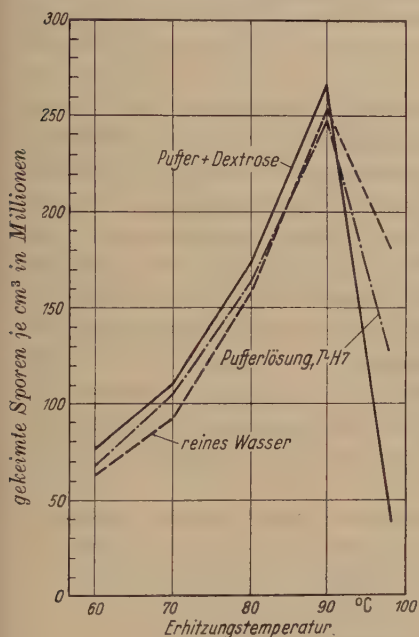


Abb. 5.

Abb. 5. Kolonienzahl nach dem Erhitzen in dextrosehaltigem Medium. Das  $p_H$  ist mit Phosphatpuffer auf 7 eingestellt.

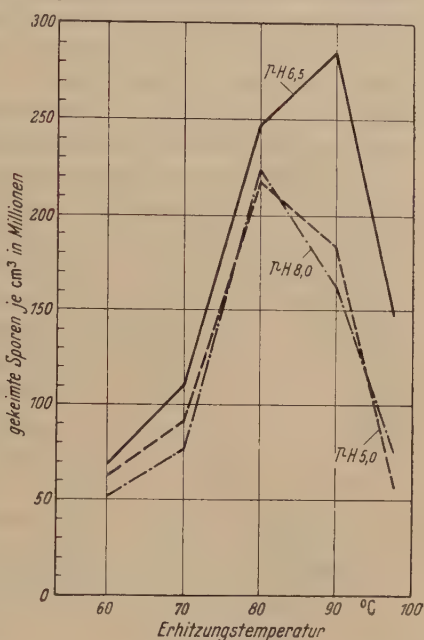


Abb. 6.

Abb. 6. Sporenaktivierung und Abtötung durch Hitze in Suspensionen mit verschiedenem  $p_H$ .

von Dextrose mit reinem Wasser und Pufferlösung als Kontrolle. Bei den Puffergemischen handelt es sich auch im folgenden immer um Phosphatpuffer nach SÖRENSEN. In diesem Fall war die Lösung genau neutral eingestellt. Die Erhitzungszeit wurde auf 5 min verlängert. Die größte erreichbare Kolonienzahl bleibt dann zwar um etwa 15 % hinter der gezählten Sporenmenge zurück, was davon zeugt, daß hier keine optimale Erwärmungszeit gewählt ist, und daß das Absterben der Zellen sich schon früh bemerkbar macht. Aber gerade dadurch, daß das längere Kochen den 98°-Versuch schon in den Bereich der Schädigung rückt, wird demonstriert, daß der Zusatz von Nährstoffen nicht den Stimulationseffekt, wohl aber — wie ja bekannt — die abtötende Hitzewirkung beeinflusst. Die Kolonienzahlen der dextrosehaltigen Suspension sinken



durch das Aufkochen rascher ab als die des reinen Wassers und der Pufferlösung, was das ganz andere Wesen der stimulierenden und schädigenden Prozesse beleuchtet. Der Versuch mit Peptonzusatz verlief ganz ähnlich.

Veränderungen des  $p_H$ -Wertes ergaben zwar Unterschiede zwischen den beobachteten Höchstzahlen an Kolonien, aber auch hier lassen sich die Abweichungen als ein früheres Einsetzen des Zellsterbens sowohl im sauren wie im alkalischen Bereich verstehen. Die bei  $p_H$  6,5 erzielte Stimulation entspricht der erwarteten Aktivierungskurve so vollkommen (Abb. 6), daß das bereits bei  $90^\circ$  einsetzende Sinken der Werte in den sauren und alkalischen Suspensionen wohl mit Recht als eine Störung

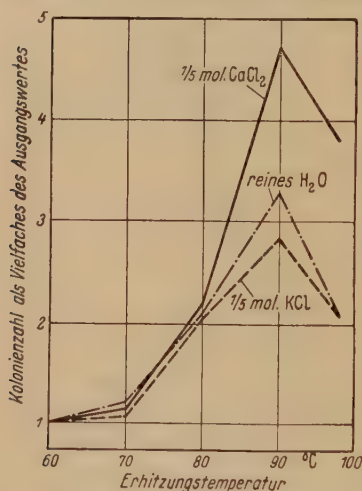


Abb. 7. Einfluß von 0,5 molarem  $\text{CaCl}_2$  auf die Sporenaktivierung.

aufgefaßt werden kann. Daß in diesem Fall die Temperaturen, auf die die meisten Sporen ansprechen, etwas niedriger zu liegen scheinen als bei dem an erster Stelle besprochenen Versuch, liegt an der verlängerten Erhitzungszeit. Der Einfluß der in verschiedenen Konzentration vorhandenen Na- und K-Ionen ist, wie spätere Versuche zeigen konnten, dabei nicht mit im Spiel. Die scheinbar stärker stimulierende Wirkung neutralen Milieus wird nur durch die schädigende Wirkung anderer  $p_H$ -Bereiche vorgetäuscht.

Ähnliches ergaben Versuche, die den Einfluß verschiedener Kationen prüfen sollten. Das  $p_H$  lag dabei immer um 6,5.

Während weder Natrium- noch Kaliumchloridzusätze die in reiner Wasser-aufschwemmung erzielten Werte verschoben, erbrachte eine 0,5 molare Calciumchloridlösung deutlich gesteigerte Höchstwerte. Abb. 7, in der die Zahl der spontan keimenden Sporen der 3 Versuchssuspensionen gleich 1 gesetzt ist, zeigt das recht deutlich. Während die Zahlenverhältnisse der mit  $\text{KCl}$  versetzten Sporenaufschwemmung ziemlich mit der in reinem Wasser übereinstimmen, ist die in der  $\text{CaCl}_2$ -Lösung erreichbare Kolonienzahl proportional wesentlich größer. Nach den bisherigen Erfahrungen liegt es nahe, auch hier ein früheres Einsetzen des Zellsterbens in Wasser und  $\text{KCl}$ -Lösung anzunehmen.  $\text{CaCl}_2$  scheint demnach eine Art Schutzwirkung auszuüben.

Sucht man nach einer Erklärung für alle beobachteten Erscheinungen, so ist die Annahme einer schwer quellbaren Membran die nächstliegende. Für Quellvorgänge spricht zunächst einmal, daß trockene

Hitze auf Sporen nicht wirkt. Der Versuch zu Tab. 4 bestätigte diese altbekannte Tatsache.

Nach der Methode von MIGAKI und McCULLOCH wurde steriler Sand mit einer Sporenaufschwemmung übergossen, sorgfältig gemischt und zu genau gleichen Portionen in Wägegäschchen eingewogen. Nach dem Trocknen über Schwefelsäure bis zur Gewichtskonstanz kamen diese in den 80°-Thermostaten, aus dem dann in Abständen immer je 3 Einwaagen herausgenommen wurden. Nach sorgfältigem Ausschütteln in Wasserflaschen wurden normale Verdünnungen angelegt und wie üblich 5 Platten beimpft. Die Zahlen von Tab. 4 sind Durchschnittswerte von je 3 Einwaagen.

Auch nach 3stündigem Aufenthalt in 80° C — einer Temperatur, die in der Wassersuspension schon nach knapp 1 Std alle Keime aktiviert — hatte sich bei den Trockensporen nichts geändert, sie enthielten die gleiche Anzahl keimwilliger Individuen wie zu Anfang. Sobald man aber die in Wasser ausgeschüttelten Proben auf 90° erhitze, trat die erwartete Aktivierung auf. Auch die Zahl der aktivierten Sporen wurde von der Dauer der vorhergehenden trocknen Erhitzung überhaupt nicht berührt. Das Verhältnis zwischen den spontan keimenden und den in feuchter Hitze aktivierbaren Zellen blieb sich immer gleich. Die minimalen Schwankungen lagen innerhalb der Fehlergrenze.

Spuren von Feuchtigkeit genügten schon, um die Kolonienzahl ansteigen zu lassen.

Tabelle 4. *Durch Trockenhitze ganz unbeeinflusste Keimstimmung von Sporen (Kolonienzahl). A Sporen stets trocken gehalten, B später in Wasser erhitzt.*

	unerhitzt	1,5 Std erhitzt	3 Std erhitzt
A	98	95	110
B	339	344	375
A : B	3,5	3,6	3,4

In einem Versuch z. B. waren die Sporen zum Trocknen nicht über Sand gegossen sondern in EK-Filtern aufgefangen worden. Die fein zerschnittenen Filter erlauben ein besonders gleichmäßiges Einwiegen der Sporen für die späteren Versuche, da diese ja von vornherein in der Filtermasse gleichmäßig verteilt sind, während sie im Sand zum Verklumpen um einzelne Körner neigen. Auch lassen sich die Filterschnitzel in den Verdünnungsflaschen in vollkommen vereinzelte Fasern zerschütteln. Trotzdem erwies sich diese Methode als unvorteilhaft, da die Spuren von Wasser, die die Zellulose hartnäckig festhält, beim Trockenversuch eine direkte Einwirkung der Hitze auf die Spore vortäuschen.

Für Quellungsvorgänge spricht weiterhin eine immer wieder zu beobachtende Veränderung der Sporenmasse. In den Reagenzröhrchen mit verschieden hoch erhitzten Sporensuspensionen erfolgt das Absetzen der Sporen nicht ganz gleich schnell. Die Veränderung der Senkungsgeschwindigkeit ist nur gering, aber ihre Verringerung ist bei 80° und 90° doch immer wieder festzustellen, während bei noch höheren Tempera-

turen offensichtlich ein neuer, die Suspension etwas aufhellender und die Senkungsgeschwindigkeit erhöhender Faktor hinzukommt.

Die Quellungsgeschwindigkeit der Gele ist bekanntlich stark temperaturabhängig, und auch der Einfluß von verschiedenem  $pH$  oder von Ca-Ionen auf Quellungsvorgänge ist bekannt: alle Versuchsergebnisse würden also mit dieser Deutung übereinstimmen.

Daß die Sporenmembran bei ihrer Entstehung am Ende der Sporenentwicklung verschieden dick ausgebildet wird, ist nicht unwahrscheinlich. Die Konkurrenz der einzelnen Zellen um Nähr- und Baustoffe muß bei der ungeheuren Zusammendrängung der Zellmassen recht groß sein. Ist die Hülle extrem schwach ausgebildet, kann die Spore bei erster Gelegenheit keimen, während die am dichtesten umschlossenen Zellen ruhen müssen, bis Außenfaktoren den Zutritt des Wassers ermöglichen.

Vielleicht können chemische Untersuchungen der Sporenmembran und eine Analyse der Faktoren, die die mehr oder weniger starke Ausbildung der Keimträgheit beeinflussen, den klaren Beweis für die hier vorgeschlagene Erklärung bringen.

### Zusammenfassung.

An einem aus Molkereimilch isolierten *Subtilis*-Stamm ließ sich die von CURRAN und EVANS beobachtete Aktivierung der Sporen durch Hitze bestätigen. Eine echte Keimträgheit wird durch die Einwirkung subletaler Temperaturen überwunden.

Das Ausmaß der Keimhemmung zeigt eine auffällige Variationsbreite. Von praktisch ungehemmten Sporen gibt es alle Übergänge zu extrem keimträgen, die längere Zeit dauernde Siedehitze zur Aktivierung brauchen. Die meisten Sporen sprechen auf 1 min lang dauernde Wirkung von 80—90° C an.

Die Wirkung der Temperatur kann sich summieren, d. h. auch niedrigere Temperaturen können bei genügend langem Einwirken den größten Teil der Sporen zum Auskeimen anregen.

Die Anregung erfolgt um so rascher, je höher die Temperatur ist. Der Verlauf der die Enthemmung bewirkenden Vorgänge ist temperaturabhängig.

Niedrige Temperaturen können nicht die Gesamtzahl der vorhandenen Sporen aktivieren. 48° C zeigen eben noch eine schwache Wirkung, während 40° C keine Veränderung herbeiführen.

Zusatz von Dextrose, Pepton oder Salzen sowie eine Veränderung des  $pH$  führen nur zu einer scheinbaren Steigerung des Aktivierungseffektes. Im Grunde verändert sich nur die Hitzeempfindlichkeit der Sporen, die früher oder später abzusterben anfangen.



Trockne Hitze ist völlig wirkungslos. Feucht erhitzte Sporen zeigen eine leichte Verminderung der Senkungsgeschwindigkeit. Beide Tatsachen sprechen für die Annahme einer schwer quellbaren Membran als allen Beobachtungen gerecht werdende Erklärung der Keimträgheit.

### Literatur.

CURRAN, H. R., and F. R. EVANS: J. Bacter. **49**, 335 (1945). — FOSTER, J. W., and S. E. WYNNE: J. Bacter. **55**, 623 (Zusammenfassende Arbeit). — MIGAKI, H., and E. C. McCULLOCH: J. Bacter. **58**, 161 (1949). — REYNOLDS, H., and LICHTENSTEIN, Referat: J. DAIRY Sc. **33**, A 35 (1949). — WYNNE, E. S., and J. W. FOSTER: J. Bacter. **55**, 61 (1948).

(Aus dem Institut für Mikrobiologie der Universität Göttingen.)

## Die Verbreitung farbstoffausscheidender Bakterien im Süßwasser<sup>1</sup>.

Von

HERTA SWART-FÜCHTBAUER.

(Eingegangen am 20. Juni 1950.)

### 1. Fragestellung, Methodik.

Verschiedene Angaben über den Reichtum des Meer- und Süßwassers an farbstoffausscheidenden Bakterien (WYNGAERT; ZO BELL gibt für das Meer 70 % an) erweckten die Vorstellung, daß das Wasser der primäre Standort auch der nicht photosynthetisch arbeitenden Pigmentbildner<sup>2</sup> ist. Im folgenden soll durch ökologisch-statistische Untersuchungen geklärt werden, wie weit diese Annahme gerechtfertigt ist; darüber hinaus wäre es wesentlich, die entsprechenden Ursachen aufzudecken.

Die Versuche beschränkten sich zunächst auf bakteriologische Wasseruntersuchungen des Seeburger Sees, einem etwa 1 qkm großen eutrophen Gewässer in der Buntsandsteinhochfläche des Eichsfeldes, 17 km östlich von Göttingen. Später mußten sie auf den Bodensee ausgedehnt werden, einen eiszeitlichen Moränensee mit einer Gesamtfläche von etwa 500 qkm (oligotropher Obersee, Teilgebiet zwischen Konstanz-Staad und Überlingen: 60 qkm und eutropher Untersee im Winkel der Insel Reichenau: 65 qkm).

Am Seeburger See wurden die Wasserproben von der Mitte des Sees von einem Kahn aus mit einer Saugflasche entnommen. Durch einen Korken führte eine feine Kapillare hinaus, die bei schnellem Hinunterlassen der Flasche ein Ausströmen der Luft, also Eintreten des Wassers durch die Saugöffnung, verhinderte und erst in der gewünschten Tiefe zuließ. Die große Tiefe des Bodensees erforderte eine stabilere Apparatur: An einem Drahtseil mit Meterrad wurde eine Metallkapsel, in der sich ein evakuiertes Glasrohr befand, in die gewünschte Tiefe gelassen. Ein Fallgewicht stieß die weitausgezogene Spitze ab und ermöglichte das Einstromen des Wassers. Das Röhrchen wurde durch mit Paraffin getränkte Watte verschlossen. Der Schlamm konnte mit einem Bodengreifer für quantitative Schlammproben nach AUERBACH erfaßt werden. Diese Apparatur befand sich an Bord einer Versuchsjacht, mit der man so schnell auf den See gelangen konnte, daß über-

<sup>1</sup> Teilergebnisse der Dissertation: „H. FÜCHTBAUER: Die Strahlenresistenz pigmentierter Bakterien.“ Mathem.-Naturw. Fakultät der Universität Göttingen, 1950.

<sup>2</sup> Diese Bakterien bilden auf Nährböden kräftig gefärbte Kolonien; die Farbstoffe sind wahrscheinlich Stoffwechsel-Endprodukte und werden in die Membran oder nach außen abgeschieden (RIPPEL-BALDES, S. 38).

raschende Wetteränderungen nach Antritt der Fahrt ausgeschlossen waren. So konnten am Bodensee wesentliche Fehler, die die Exaktheit der Versuche am Seeburger See beeinträchtigt hatten, vermieden werden. Es wurde darauf geachtet, daß die Proben dort spätestens zwei Stunden nach der Entnahme in der direkt am See gelegenen Anstalt für Bodenseeforschung, Konstanz-Staad<sup>1</sup>, verarbeitet wurden, da entsprechende Versuche gezeigt hatten, daß die Farbstoffbildner bei Aufbewahrung in Flaschen von den anderen Keimen unterdrückt werden.

Großer Wert wurde auf die meteorologischen Daten gelegt. So fuhr man um die Kulmination und nur an Tagen, denen solche mit gutem, ruhigem Wetter vorangegangen waren, auf den See.

Zur Zählung der Keime wurden nach KOCH Platten gegossen. Die weitaus höchste Keimzahl wurde mit einem neutralisierten, die omnivoren Keime erfassenden Nährboden für Fäulnisbakterien erzielt: 1000 g Seewasser, 3 g Pepton-Witte, 12 g Probazit (pflanzliche Eiweiße enthaltender Nährboden der Maggiwerke), 5 g Glycerin, 12 g Agar-Agar. Da jeder Nährboden nur selektiv Keime erfaßt, können bei derartigen ökologischen Versuchen nur relative Vergleiche gezogen werden. Um Schwankungen weitgehend auszuschalten, wurde an eine Entnahmeserie immer eine zweite an gleicher Stelle angeschlossen; außerdem wurden von jeder Probe 5 Platten mit drei verschiedenen Verdünnungen gegossen.

Folgende Daten waren bei der Auszählung der Platten zu berücksichtigen: 1. Zahl der Kolonien; 2. Zahl der gefärbten Kolonien; 3. Zahl der gefärbten, auf die Gesamtzahl = 100 bezogenen Kolonien; 4. Zahl der Kolonien der verschiedenen Farbstoffe. Da die Platten mit den verschiedenen Verdünnungen nicht gleich gut bewertet werden konnten, erwies es sich als notwendig, leicht auswertbare Platten höher zu bewerten als schwerer auszählbare. (Petrischalen mit der Keimzahl 100 erhielten den größten Wert; den Platten mit nach oben und unten abweichenden Keimzahlen wurde ein entsprechend niedrigerer Wert beigelegt.) Die Petrischalen wurden mindestens 12 Tage bei Zimmertemperatur bebrütet, da Wasserbakterien bei dieser Temperatur am besten gedeihen und die gefärbten Stämme sich zum Teil erst spät entwickeln.

Tabelle 1. Einige meteorologische Daten bei den 5 Probeentnahmen aus dem Bodensee.

Gewässer	Probe	Datum	Bewölkung	Nieder- schlag	Wasser- tiefe m	Ortsbestimmung: Schnitt
Obersee (oligotroph)	I	29.8.46	$\frac{4}{10}$ bedeckt, Sonne	einige Tropfen	60	Molenkopf Staad / Hafen Mainau, nahe den Wasserwerken
	II	13.9.46	$\frac{3}{10}$ bedeckt, Sonne	—	100	Seefeldlen / Mainau, nahe Unteruhldingen
Untersee (eutroph)	III	30.9.46	diesig, Sonne schwach	—	16,2	Merkelfingen/Mainau Merkelfinger Winkel
	IV	30.9.46	Sonne	—	13	Hagenau / Mittelzell Gnadensee
	V	30.9.46	bedeckt	—	23,6	Radolfzell / Iznang Radolfzeller See

<sup>1</sup> Herrn Prof. Dr. AUERBACH und Herrn Dr. MUCKLE bin ich sehr dankbar für ihr freundliches Entgegenkommen und die große Hilfe, die sie mir bei den Versuchsfahrten auf dem Bodensee gewährten.



## 2. Ökologie der Pigmentbildner.

Es galt zunächst, die Gesamtkeimzahl und den Prozentsatz der farbigen Bakterien in Wasser, Schlamm, Erde und Luft festzustellen, um die Verteilung der Pigmentbildner in den verschiedenen Medien zu ermitteln. Bei einem groben Vergleich der Kolonien findet man in der Luft den größten Anteil an farbstoffausscheidenden Bakterien, nämlich 47 %, im oligotrophen Wasser 40 %, in der Erde 16 %, im eutrophen Wasser 12 % und im Schlamm 7 %. Die genauen Werte der einzelnen Probeentnahmen gibt Tab. 2 an.

Tabelle 2. Gesamtkeimzahl und Prozentsatz der farbigen Bakterien bei den verschiedenen Probeentnahmen.

Probe	Wasser					Schlamm					Erde					Luft				
	gesamt		% gefärbt			gesamt		% gefärbt			gesamt		% gefärbt			ges.		% gefärbt		
	1 ccm	n	M	m	Ø Pl.	1 ccm	n	M	m	Ø Pl.	1 ccm	n	M	m	Ø Pl.	10'	n	M	m	Ø Pl.
I	33	90	42,3	3,9	8,5	2606	15	4,9	0,3	582	9508	40	15,1	1,7	2270	36	20	47,6	5,7	36
II	32	72	37,2	3,6	17,4	130	20	4,3	3,5	84	170	32	16,0	1,9	83	37	20	43,1	3,4	37
III	1880	48	18,1	1,3	181,0	1680	12	9,4	4,8	536	—	—	—	—	—	22	5	53,2	6,2	22
IV	1180	40	8,7	1,9	169,0	346	12	12,7	1,6	134	—	—	—	—	—	15	5	50,2	3,9	16
V	1580	32	10,4	1,4	178,0	1150	12	3,8	2,8	396	—	—	—	—	—	9	5	40,8	3,6	9
Ø	33		39,7		oligotroph															
	1547		12,4		eutr.	1182		7			4839		16			24		47		

1 ccm = Gesamtkeimzahl in 1 cm<sup>3</sup> Wasser;

10' = Gesamtkeimzahl nach 10 min Lüftung;

n = Zahl der ausgewerteten Platten;

M = Mittelwert des Prozentsatzes der gefärbten Kolonien;

m = mittlerer Fehler des Mittelwertes;

Ø Pl. = Zahl der Kolonien auf den ausgewerteten Platten.

Wie aus den hohen Werten von m ersichtlich ist, streuen die Einzelergebnisse entsprechend dem Wesen ökologischer Untersuchungen sehr stark. Deshalb wurde die Zahl der ausgewerteten Platten n angegeben. Da im eutrophen Gewässer die Gesamtkeimzahl besonders hoch und der Prozentsatz der Farbstoffbildner sehr gering ist, wurde dieser mit der durchschnittlichen Zahl je Platte (Ø Pl.) und den durchschnittlichen Zahlen je Kubikzentimeter (1 cm<sup>3</sup>) verglichen; jedoch ließ sich keine direkte Abhängigkeit feststellen.

Von  $56 \cdot 10^5$  Keimen des Seeburger Sees sind im Durchschnitt 10 % farbig; dies entspricht fast genau den Verhältnissen im eutrophen Untersee. — Die Zahl der Pigmentbildner in der Erde ist ungewöhnlich hoch, wahrscheinlich, weil ufernahe Erdproben aus 5 cm Tiefe entnommen wurden; hierdurch übertreffen die Keimzahlen in der Erde die des eutrophen Untersees. Immerhin geht aus Tab. 2 hervor, daß die Luft und

das oligotrophe Süßwasser wesentlich reicher an farbigen Bakterien sind, als die anderen Medien, wenn auch nicht entfernt die Werte des Salzwassers erreicht wurden.

### 3. Ursachen der Anreicherung von Pigmentbildnern im Wasser.

Um die Ursache für das vermehrte Auftreten von Farbstoffbildnern im Wasser zu klären, schien es wesentlich, zu untersuchen, ob unmittelbar wirksame Zusammenhänge mit der Lichteinwirkung bestehen. Diese Möglichkeit erforderte eine Ermittlung der Gesamtkeimzahl und des Prozentsatzes der farbigen Bakterien in verschiedenen Tiefen und zu verschiedenen Jahreszeiten.

Im Seeburger See ist die Gesamtkeimzahl — geringe oberflächliche Verunreinigungen durch die Luft ausgenommen — in der Bodenschicht (2,5 m Tiefe) durch Diffusion der Keime aus dem bakterienreichen Schlamm etwa 3 mal so hoch wie im klaren Wasser. Abgesehen von diesem Befund waren weder farbige noch farblose Keime in bestimmten Tiefen geschichtet. Starke Schwankungen der Werte des Seeburger Sees waren verständlich, da der flache See durch Winde leicht aufgerührt wird. So steigt die Keimzahl z. B. in den oberen Wasserschichten an stürmischen Tagen etwa um das 9fache. Daraufhin wurden am Bodensee, bei dessen Tiefe derartige Einflüsse fortfielen, sehr exakte Messungen in 10 verschiedenen Tiefen vorgenommen (Oberfläche bis 100 m Tiefe). Jedoch ergaben diese auch kein neues Bild, d. h. es wurde keinerlei Schichtung gefärbter oder ungefärbter Bakterien gefunden.

Um den Einfluß der Einstrahlung auf die Pigmentbildner festzustellen, wurden während eines Jahres unter genauer Berücksichtigung der meteorologischen Daten monatlich einmal Keimzahlbestimmungen im Seeburger See durchgeführt. Die Gesamtkeimzahl ist in den Sommermonaten etwa 6 mal so hoch wie im Winter, jedoch liegt der Höhepunkt des Bakterienwachstums jahreszeitlich hinter der Hauptentwicklung des Mikroplanktons. Diese Ergebnisse decken sich mit denen von KLEIN und STEINER am Lunzer Untersee und von BAIER am Kleinen Kiel. Hingegen fand MINDER am Zürichsee während der Sommerstagnation ein Keimzahlenminimum, das Maximum erst im Winter.

Der Prozentsatz der Farbstoffbildner in den verschiedenen Jahreszeiten steht im umgekehrten Verhältnis zu der Gesamtkeimzahl; es handelt sich vorwiegend um *rote Hefen* und *Kokken*, um *gelbe Sarcinen*, *Kokken* und *Stäbchen* und um *orange Stäbchen*. Da in den Sommermonaten und an der Oberfläche des Sees nicht mehr farbstoffausscheidende Bakterien gefunden wurden als im Winter und in der Tiefe, scheinen Lichteinflüsse keine direkte Bedeutung zu haben.

Es ist noch zu erwägen, ob schädigende Strahlen in natürliche Gewässer eindringen, denen gegenüber Pigmentbildner widerstandsfähiger sind; ob also dem

Licht eine indirekte Bedeutung zukommt. Die kurzwellige Strahlung, die reines Wasser verhältnismäßig weit durchdringt, wird durch gelöste Salze und Humusstoffe stark absorbiert. SAUBERER und RUTTNER stellten fest, daß im Lunzer Untersee z. B. die Durchlässigkeit der Wellenlänge 366 m $\mu$  in 1 m Tiefe nur 13,3% beträgt. Werden Bakterien auf dem Lande in zwei Stunden getötet, dann würden sie in 1 m Tiefe durch diese Wellenlänge erst nach 15 Std getötet, falls sie ihre Lage während dieser Zeit nicht verändern. Die Bakterizidie der Strahlung im natürlichen Gewässer ist also unbedeutend.

Abgesehen von dem größeren Nährstoffgehalt im Sommer wird auch die Zunahme der festen Partikel im Wasser das Bakterienwachstum fördern, denn nach RIPPEL-BALDES (S. 241) ist die feste Phase der primäre Standort der Mikroorganismen. So fand KLEIBER am Zürichsee nur  $10^1$  Keime je Kubikzentimeter, an stark verschmutzten Stellen hingegen  $10^5$  Keime. Dementsprechend ist das Wasser ursprünglich keimarm und man muß unterscheiden zwischen wassereigenen und wasserfremden Bakterien (BAIER). Verunreinigungen von der Luft her waren im Seeburger See am sichersten im Januar 1945 bei Vereisung der Oberfläche ausgeschaltet. Hier betrug die Keimzahl in der Schicht über dem Schlamm das 60fache derjenigen des besonders keimarmen Wassers unter dem Eis. Diese Schlamm Bakterien (1 oder 2 orange Arten) waren dort wahrscheinlich durch die Ruhe des Wassers geschichtet. Man kann also annehmen, daß die Gesamtkeimzahl eines Gewässers zum Teil durch von außen zugeführte Bakterien gespeist wird (Luft oder Schlamm) und mit der Zunahme von Nährstoffen und festen Partikeln ansteigt.

Es fragt sich nun, ob die Pigmentbildner wassereigene Keime sind oder in besonders großem Maße von außen zugeführt werden. Im Sommer steigt die Gesamtkeimzahl, der prozentuale Gehalt an Pigmentbildnern wird geringer. Diese scheinbare Abnahme der Farbstoffbildner bedeutet nur ein Gleichbleiben gegenüber dem Anstieg der Gesamtkeimzahl bei besseren Ernährungsbedingungen. Vielleicht deutet dieser Befund darauf hin, daß vor allem die farbigen Kolonien wasserfremd sind. Ähnlich sind die Unterschiede im eutrophen und oligotrophen Gebiet des Bodensees zu bewerten. Während die Gesamtkeimzahl in eutrophen Gewässern gegenüber den oligotrophen etwa um das 50fache erhöht ist, steigt die Zahl der gefärbten Bakterien in 1 cm<sup>3</sup> Seewasser nur um das 3fache. (Nicht aus Tab. I ersichtlich, da hier nur die Prozentsätze der gefärbten Keime angegeben sind.) Auch die Zunahme ungefärbter und die Abnahme gefärbter Bakterien in aufbewahrten Seewasserflaschen hat wohl ähnliche Ursachen.

Es ist ausgeschlossen, daß die verstärkte Ausbildung von Bakterien im nährstoffarmen Wasser parallel der allgemeinen Erscheinung einer Färbung von alten und geschwächten Kulturen geht, da alle Keime auf dem gleichen Nährboden isoliert wurden und gut wuchsen.

Zur Erleichterung der Annahme der sekundären Herkunft der Farbstoffbildner im Wasser wurde die zahlenmäßige Beteiligung der einzelnen



farbigen Kolonien an der Gesamtzahl der gefärbten Bakterien in den verschiedenen Medien festgestellt. Da es nicht möglich war, jede farbige Kolonie sofort mikroskopisch zu untersuchen, gaben diese Auszählungen nur ein grobes statistisches Bild von dem Vorkommen gleicher Bakterien an verschiedenen Standorten.

Tabelle 3. Verteilung der einzelnen gefärbten Kolonien in den verschiedenen Medien. Die Ziffern geben den Durchschnitt je Platte der 5 Probeentnahmen an.

Medium	gelb	orange	rot	blau
Wasser . . . . .	2,19	9,96	0,24	0,099
Schlamm . . . . .	0,084	6,24	0,29	—
Erde . . . . .	3,39	29,25	0,37	—
Luft. . . . .	5,11	1,88	2,33	0,03
Wasser, oligotroph . . . . .	2,59	1,59	0,16	0,017
Wasser, eutroph . . . . .	1,93	15,53	0,29	0,15
Wasser . . . . .	2,19	9,96	0,24	0,099
Ø Luft + Erde + Schlamm . . . . .	2,86	12,46	0,99	0,33

Aus Tab. 3 geht deutlich hervor, daß einzelne Farbstoffbildner ausgesprochene Vertreter bestimmter Medien sind. So sind im Schlamm und in der Erde vorwiegend orange Keime, in der Luft dagegen verhältnismäßig viele rein gelbe und rote Bakterien nachgewiesen worden. Im eutrophen Wasser sind wesentlich mehr orange Bakterien als im oligotrophen; verständlicherweise können sich diese Schlamm Bakterien im nährstoffreichen Wasser länger halten als die anderen aus der Luft stammenden Keime.

Vergleicht man den Durchschnitt der Zahlen aus Luft, Erde und Schlamm mit denen aus dem Wasser (Tab. 3), dann ergibt sich, daß die beiden Werte recht gut übereinstimmen, daß also die gefärbten Wasserkeime anscheinend aus den benachbarten Medien stammen. Wie Untersuchungen im Seeburger See bestätigen, nach denen im Wasser bei Vereisung der Oberfläche vorwiegend orange Schlamm Bakterien, im Sommer dagegen Luftkeime gefunden wurden, werden dem Wasser die orange gefärbten Keime aus dem Schlamm und der Erde zugeführt, die gelben und roten vorwiegend aus der Luft.

Mikroskopische Untersuchungen von etwa 80 isolierten Stämmen bestätigten die Identität eines großen Teils der farbigen Wasserkeime mit denen der angrenzenden Medien.

#### 4. Diskussion der Ergebnisse.

Die ökologischen Untersuchungen haben gezeigt, daß der Gehalt des oligotrophen Süßwassers an Farbstoffbildnern den von Erde und Schlamm übersteigt. Jedoch ist er nicht so hoch, daß es erlaubt wäre,

das Wasser als primären Standort der Farbstoffbildner zu bezeichnen. Vielleicht gibt es indessen im Salzwasser wassereigene, an das Vorkommen von Salz gebundene Farbstoffbildner; nach PETROWA ist nämlich das Seesalz besonders reich an Pigmentbildnern.

Ein primärer Zusammenhang zwischen der Lichteinwirkung und dem Vorkommen von Farbstoffbildnern im Wasser scheint nicht zu bestehen. Hingegen deutet der große Gehalt der Luft an farbigen Bakterien darauf hin, daß das Wasser in besonders starkem Maße von diesen Keimen infiziert wird.

Vielleicht kann man die Verhältnisse durch folgendes Schema sehr einfach darlegen: Durch den Wind werden ständig Bakterien von der Erde in die Luft gewirbelt; dort können sie dank ihrer geringen Größe sehr lange verbleiben, ohne zu sedimentieren. Infolge eines Ausleseprozesses durch die Sonnenstrahlen, auf den in einer weiteren Arbeit eingegangen werden soll, überleben vor allem gefärbte Bakterien, die wegen der schnellen Verteilung im wäßrigen Medium den Anteil der farbigen Wasserbakterien, besonders der gelben und roten, vergrößern. Farblose und orange Keime werden vorwiegend vom Schlamm und von der Erde hinzugeführt.

Die vorausgesetzte Annahme, daß die auf Nährböden farbige Kolonien ausbildenden Bakterien auch unter natürlichen Verhältnissen Pigmente ausscheiden, ist nicht ohne weiteres zu begründen. Immerhin muß man annehmen, daß entsprechend der verschiedenen Farbausbildung auf Nährböden auch unter natürlichen Verhältnissen unterschiedliche Merkmale — vielleicht stoffwechselphysiologischer Art — vorliegen.

### Zusammenfassung der Ergebnisse.

1. Der eutrophe Seeburger See enthält im Durchschnitt in einem Kubikzentimeter 56mal  $10^5$  Bakterien; die Keimzahl ist im Sommer 6mal so hoch wie im Winter. Im oligotrophen Bodensee (Obersee) wurden 30 Keime in einem Kubikzentimeter gefunden, im eutrophen Untersee etwa 50mal soviel.

2. Im Seeburger See waren 10% der Keime gefärbt. Im Gebiet des Bodensees betrug der Prozentsatz der gefärbten Bakterien:

in der Luft . . . . .	47 %
im oligotrophen Obersee. . . . .	40 %
in der Erde . . . . .	16 %
im eutrophen Untersee . . . . .	12 %
und im Schlamm . . . . .	7 %

3. Ein direkter Einfluß des Lichtes auf die Gesamtkeimzahl oder die Zahl der gefärbten Bakterien in Gewässern scheint nicht zu bestehen; es konnte weder eine jahreszeitliche Abhängigkeit noch eine Schichtung in bestimmten Tiefen beobachtet werden.

4. Die gefärbten Keime erwiesen sich vorwiegend als wasserfremd, ihre Zahl war im eutrophen Untersee des Bodensees im Gegensatz zu der Gesamtkeimzahl nur wenig höher als im oligotrophen Obersee und im Sommer im Seeburger See nicht größer als im Winter.

5. Durch Auszählung der gefärbten Kolonien der einzelnen Medien wurde bestätigt, daß die Pigmentbildner vorwiegend aus den benachbarten Medien in das Süßwasser gelangen. Das Verhältnis der verschiedenfarbigen Kolonien zueinander im Wasser war etwa gleich dem Durchschnitt aus den entsprechenden Luft-, Erd- und Schlammwerten. Der Reichtum an Farbstoffbildnern ist auf die Selektion durch die Sonnenstrahlen zurückzuführen.

### Literatur.

BAIER, K. R.: Arch. f. Hydrobiol. **29**, 183 (1935). — KLEIN, G., und M. STEINER: Österr. bot. Z. **78**, 289 (1929). — KLEIBER, A.: Qualitat. u. quant. bakteriolog. Unters. des Zürichseewassers. Zürich 1894. — MINDER, L.: Arch. f. Hydrobiol. **12**, 122 (1920). — PETROWA, E. K.: Arch. f. Mikrobiol. **4**, 326 (1933). — RIPPEL-BALDES, A.: Grundriß der Mikrobiologie. Berlin und Göttingen: Springer-Verlag 1947. — SAUBERER, F., und F. RUTTNER: Die Strahlenverhältnisse der Binnengewässer. Leipzig: Akad. Verl.-Ges. 1941. — ZO BELL, C. E.: Annual Rev. of Biochem. **16**, 565 (1947). — DE WYNGAERT, CH.: Microorganismes de nos eaux douces. Lausanne: F. Rouge et Cie. 1947.



(Aus dem Institut für Bakteriologie und Serologie der Biologischen Bundesanstalt für Land- und Forstwirtschaft, Braunschweig-Gliesmarode.)

## Zur Frage der Bindung atmosphärischen Stickstoffs durch hautbildende Hefen.

Von

C. STAPP.

Mit 1 Textabbildung.

(Eingegangen am 20. September 1950.)

Im vergangenen Dezennium dieses Jahrhunderts hat H. SCHANDERL [3,4] die Frage wieder aufgegriffen, ob Hefen in der Lage sind, den elementaren Stickstoff der Luft zu assimilieren, ein biologischer Vorgang, der bei gewissen frei und in Symbiose mit höheren Pflanzen lebenden Bakterien bekannt ist und nicht mehr umstritten sein sollte. Es liegen über die angeblich  $N_2$ -bindende Eigenschaft von Hefen bereits eine Reihe älterer Literaturangaben vor mit teils positiven, teils negativen Ergebnissen. Auf diese hier des näheren einzugehen, erübrigt sich, da SCHANDERL [3,4] und auch sein Schüler FREI [1] sie schon ausführlich zitiert haben.

Nach eigenen Untersuchungen SCHANDERLS aus dem Jahre 1940 [3] und weiteren Untersuchungen von FREI 1942 [1] kommt hautbildenden Hefen, also sogenannten Kahlmhefen, das Vermögen der Stickstofffixierung zu. M. P. LÖHNIS hat 1943 eine Nachprüfung dieser Ergebnisse mit Kahlmhefen vorgenommen [2] und zwar benutzte sie die nach FREI als besonders geeignet anzusehenden *Pichia membranaefaciens* und *Mycoderma vini*, daneben noch *Schizosaccharomyces pombe* und *Saccharomyces cerevisiae*. Trotz sehr exakter Durchführung ihrer Analysen konnte sie die „an sich sehr überraschenden Resultate von FREI“ nicht bestätigen. SCHANDERL schreibt dann 1947 S. 181 bei dem Versuch einer Erklärung dieser Diskrepanz, daß MARIA P. LÖHNIS „bereits nach 10 Tagen das Wachstum der Kahlmhefen für erloschen erklärte“ und auf S. 182, daß in der Arbeit der Autorin „kein Wort“ stehe, „ob die von ihr verwendeten Stämme . . . Heferinge, Inseln oder Hautdecken gebildet haben“. In Wirklichkeit heißt es in der Originalarbeit von M. P. LÖHNIS (S. 136) „Die Impfung geschah mittels 3 Tropfen einer Hefesuspension in Wasser. Nach 2 Tagen hatte sich eine deutliche Haut entwickelt. Etwa 8 Tage später wurden die Kolben aufgeschüttelt und beobachtet, ob sich aufs neue eine Haut bildete. War das nicht der Fall, so wurde der Zuwachs als erloschen betrachtet.“ Es geht aus der Arbeit von M. P. LÖHNIS weiterhin einwandfrei hervor, daß unter den Versuchen sich solche von 36-, 37-, 41- und 56-tägiger Dauer befanden! Jedenfalls konnte MARIA P. LÖHNIS keine Stickstoffbindung feststellen. Wenn sich in einem einzigen Fall ein absoluter Mehrertrag von 0,12 mg N (entsprechend 2,4 mg N, berechnet auf ein Liter) ergab, so muß man der Autorin recht geben, wenn sie schreibt, daß das „kaum als Bindung zu deuten“ sei, zumal von FREI Mehrerträge von etwa 124 mg N/L erfaßt worden sein sollen.

Wegen dieser nicht unerheblichen Widersprüche wurde meinerseits Herrn Professor SCHANDERL im Herbst 1948 zugesagt, einen Versuch in gleicher Richtung anzusetzen, sofern mir der Hefestamm und der Traubenmost aus seinem Institut zur Verfügung gestellt werden würden. Das geschah. Als Kahlhefe wurde *Pichia farinosa* verwendet. Es wurde absichtlich nicht gleich in KJELDAHL-Kolben angesetzt, sondern wegen der größeren Oberfläche in 300-cm<sup>3</sup>-ERLENMEYER-Kolben, und zwar für 3 Serien je 3 Kolben, die zunächst mit je 160 cm<sup>3</sup> Substrat beschickt wurden, wobei die Serie I nur Most enthielt, Serie II Most mit Hefe beimpft, Serie III Most mit Hefe beimpft und Zusatz von Sublimat. Nach Sterilisation und Beimpfung wurden dann jedem Kolben 10 cm<sup>3</sup> entnommen, diese sofort mit konzentrierter Schwefelsäure versetzt und dann analysiert.

Die Stickstoffbestimmung erfolgte nach der KJELDAHL-Methode unter Verwendung eines Selenreaktionsgemisches. Vorgelegt wurde eine 5% ige Borsäurelösung und als Indikator Methylrot verwendet. Serie I bis III, von denen die beiden letzteren am 27. November 1948 beimpft worden waren, blieben bis zum 5. März 1949 bei Zimmertemperatur stehen. Das Wachstum der *Pichia* in den Kolben der Serie II war zu Anfang ungemein üppig, kaum daß eine Kahlhaut gebildet war, sank diese auch bereits wieder ab, und es entwickelte sich eine neue. Selbst nach etwa 12 Wochen langem Stehen besaßen die Kulturen noch einen frischen, angenehmen Geruch. Die Vorbedingungen für eine etwaige N<sub>2</sub>-Bindung waren demnach besonders günstig. Von den Kontrollkolben der Serie I verunglückten 2 durch Bruch während der Aufbewahrung. Von jedem Kolbeninhalt der übrigen Serien wurden nach Aufschluß jeweils 3 aliquote Teile entnommen und getrennt destilliert. Wegen der sehr guten Übereinstimmung dieser jeweils 3 Parallelen seien nur die Mittelwerte angegeben und von der mittleren Fehlerberechnung sei hier Abstand genommen. Die Analysenwerte sind aus Tab. 1 ersichtlich.

Tabelle 1. *Pichia farinosa* in Traubenmost.

Kolben- bezeichnung	Kontrolle (Serie I) % N	beimpft (Serie II) % N	beimpft + HgCl <sub>2</sub> -Zusatz (Serie III) % N
a	—	0,0945	0,0956
b	—	0,0944	0,0947
c	0,0941	0,0941	0,0944

Trotz der, wie gesagt, außerordentlich kräftigen Entwicklung der Hefe in den Kolben der Serie II dürfte kein Zweifel darüber bestehen, daß das Ergebnis als negativ zu werten ist.

Von diesem Befund setzte ich Herrn Professor SCHANDERL am 5. Mai 1949 brieflich in Kenntnis. Am 11. Mai bereits traf die Antwort ein:

„Über den negativen Ausgang der Prüfung der Kahlhefe auf Luftstickstoffassimilation bin ich . . . nicht erschüttert. Derartige Ergebnisse haben mich vor 8 und 9 Jahren einmal erschüttert, bis sich herausstellte, daß es sehr auf den Zeitpunkt der Ernte des Pilzes ankommt. Entsprechend nebenstehender Kurve können Sie bei einer Kahlhefekultur einen Zeitpunkt wählen, bei dem Sie den gleichen  $N_2$ -Gehalt wie beim Anfang des Versuches vorfinden oder einen niedrigeren. Zuletzt gehen flüchtige Amine in die Luft, daher auch der unangenehme Geruch.“ Wohl ist es einleuchtend, daß alte Kulturen durch Autolyse etwas an Stickstoff verlieren können, aber eine Kurve, die einen so hohen Gipfel der  $N_2$ -Bindung zeigt und dann unter den Stickstoffausgangswert der



Abb. 1. Stickstoffbindungskurve für hautbildende Hefen nach SCHANDERL.

Nährlösung absinkt, ist mir aus der bisherigen Literatur nicht bekannt. FREI[1] gibt z. B. (S. 334) an, daß er bei *Pichia farinosa* in einer Tomatenkochsalzlösung nach 7 Wochen 23,3 mg N/L, nach 4 Monaten 37,3, nach 6 Monaten 42,0 und nach 7½ Monaten 39,3 mg N/L festgestellt habe bei einem Stickstoffgehalt der Kon-

trolle von 16,3—16,5 mg. SCHANDERLS Behauptungen sind also in keinem Fall wissenschaftlich gestützt. M. P. LÖHNIS war der Vorwurf gemacht worden, sie habe die Analysen zu früh durchgeführt, die meinigen sollten demnach zu spät erfolgt sein. Dabei ist besonders merkwürdig, daß in der SCHANDERLSchen Veröffentlichung des Jahres 1940 sich Angaben finden, nach denen z. B. bei Versuchen mit *Pichia membranaefaciens* der Stickstoffausgangsgehalt der Kultur nach 4½ Monaten um 100%, bei *Willia anomala* in derselben Zeit um 104,5% zugenommen haben soll. Wenn auch der SCHANDERLSchen Kurve das Odium der Willkürlichkeit anhaftet, so sollte doch geprüft werden, ob zu irgendeiner früheren Zeit als 3 Monaten ein Stickstoffmehrertrag nachzuweisen sein würde.

Es wurden diesmal drei verschiedene Kahlhefen, die alle von Professor SCHANDERL selbst stammten, also wohl die entsprechende Eignung besitzen mußten, zu den Versuchen herangezogen, und zwar: A. *Pichia farinosa*, B. *Pichia membranaefaciens* und C. *Mycoderma bispora*. Da der Traubenmost verbraucht war, wurde ungehopfte Bierwürze, mit Leitungswasser zu gleichen Teilen verdünnt, herangezogen, in der sich alle 3 Hefen gut zu entwickeln vermochten. Vor dem Sterilisieren wurde die Würze auf  $p_H$  6,3 eingestellt.



Für *Pichia farinosa* wurden 300-cm<sup>3</sup>-ERLENMEYER-Kolben, für *Pichia membranaefaciens* 200-cm<sup>3</sup>-ERLENMEYER-Kolben und für *Mycoderma bispora* 500-cm<sup>3</sup>-KJELDAHL-Kolben verwendet, in die jeweils 100 cm<sup>3</sup> der Würze eingefüllt worden waren. Von den Kolben der Serien A und C sollten je 2 nach 4, 8 und 12 Wochen, von denen der Serie B je 2 nach 3, 6, 9 und 12 Wochen analysiert werden. Von den Kontrollen sowie von A, B und C wurden auch sofort bei Beginn Stickstoffbestimmungen durchgeführt. Beimpft wurden die Kolben am 23. Juni 1949, und es wurden nach dem jeweiligen Aufschluß aus jedem Kolben 3 Parallelbestimmungen gemacht.

Die Ergebnisse sind in der Tab. 2 wiedergegeben. Eine Bindung elementaren Stickstoffs durch die 3 Hefen hat sich in keinem der verschiedenen Zeitpunkte feststellen lassen. Wenn in einigen wenigen Fällen die Stickstoffgehalte etwas höher liegen, so ist das Plus derart unbedeutend, daß eine N<sub>2</sub>-Assimilation aus der Luft daraus niemals abgeleitet werden kann.

Tabelle 2. Stickstoff-Gehalt in Prozent (Mittelwerte aus je 3 Bestimmungen).

Zeit nach Wochen	Kontrolle		A		B		C	
	a	b	a	b	a	b	a	b
0	—	—	0,04830	0,04765	—	—	0,04696	0,04765
3	—	—	—	—	0,04835	0,04810	—	—
4	—	—	0,04810	0,04740	—	—	0,04900	0,04740
6	—	—	—	—	0,04900	0,04835	—	—
8	—	—	0,04855	0,04855	—	—	0,04925	—
9	—	—	—	—	0,04880	0,04810	—	—
12	0,04880	0,04780	0,04715	0,04695	0,04760	0,04780	0,04810	0,04740

Professor F. SCHEFFER, der mit E. KÜSTER zusammen [5] sich desgleichen bereit erklärt hatte, die Versuche SCHANDERLS nachzuprüfen und der mir freundlichst Einsicht in das Manuskript gab, wofür ich an dieser Stelle nochmals danken möchte, hat ebenfalls mit von SCHANDERL bezogenen Hefestämmen und Traubenmost gearbeitet, darunter mit *Pichia farinosa* und *Mycoderma bispora*. Als Nährsubstrat diente u. a. ein im Verhältnis 1:4 verdünnter Traubenmost mit einem auf 8,4 gebrachten pH-Wert. Analysiert wurde nach jeweils 6 Wochen. Eine Stickstoffzunahme in den beimpften Kolben konnte in keinem Fall nachgewiesen werden; im Gegenteil, es war ein geringer Stickstoffverlust zu verzeichnen, wahrscheinlich deshalb, weil die Kulturen zum Unterschied von den meinigen bei 27° C bebrütet worden waren.

Es scheint mir zwecklos und auch überflüssig, nach Gründen zu fahnden, um die Widersprüche zwischen den Befunden SCHANDERLS und seinem Schüler FREI einerseits und denen von M. P. LÖHNIS, SCHEFFER, KÜSTER und mir andererseits aufklären zu wollen. Wenn SCHANDERL

für die negativen Befunde von M. P. LÖHNIS die folgende Begründung [4] (S. 182) gibt: „Bei den Hefen gilt das gleiche wie bei den Bakterien: sie können, aber sie müssen nicht Luftstickstoff assimilieren. Negative Resultate sind nie sichere Beweise, daß sie es nicht können. Kurzum, die gegenteiligen Befunde von M. LÖHNIS sind keine Gegenbeweise“, so ist zur Entscheidung solcher Fragen diese Argumentation — wissenschaftlich genommen — völlig abwegig. Zur Stickstoffbindung fähige Bakterienarten bzw. -stämme können zwar in ihrer  $N_2$ -fixierenden Fähigkeit größere graduelle Unterschiede aufweisen. Wenn sie aber in einer geeigneten N-freien Nährlösung wachsen, so binden sie auch immer atmosphärischen Stickstoff. Bakterien werden nur so auf diese ihre Eigenschaft geprüft. Bei den Hefen und auch bei manchen Pilzen sollte das nach SCHANDERL und FREI anders sein. Sie sollen den elementaren Stickstoff dann assimilieren können, wenn ihnen im Substrat mehr oder weniger reichlich gebundener Stickstoff geboten wird. Trotz Belegung mit vielen Analysenzahlen von seiten SCHANDERLS und seines Schülers kann diese Schlußfolgerung nicht bestätigt werden.

### Zusammenfassung.

Mit Kahlhefen, die von Professor SCHANDERL zur Verfügung gestellt worden waren, wurden Versuche durchgeführt, um die Angaben über die stickstofffixierende Fähigkeit dieser Hefen nachzuprüfen.

Zur 1. Versuchsreihe wurde *Pichia farinosa* in ebenfalls von Geisenheim geliefertem Traubenmost herangezogen. Die Kulturdauer bei Zimmertemperatur betrug rund 3 Monate. Trotz ungemein üppigen Wachstums der Hefe war eine Bindung elementaren Stickstoffs nicht festzustellen.

In der 2. Versuchsreihe kamen außer *Pichia farinosa* noch *Pichia membranaefaciens* und *Mycoderma bispora* zur Anwendung, und zwar in verdünnter ungehopfter Bierwürze, die auf  $pH$  6,3 eingestellt war. Die Kulturen von *Pichia farinosa* und *Mycoderma bispora* wurden jeweils nach 4, 8 und 12 Wochen, die von *Pichia membranaefaciens* nach 3, 6, 9 und 12 Wochen abgebrochen und analysiert. Wiederum ließ sich eine Assimilation atmosphärischen Stickstoffs nicht nachweisen.

### Literatur.

- [1] FREI, H.: Zbl. Bakter. II. Abtlg. **104**, 326 (1942). — [2] LÖHNIS, M. P.: Sind hautbildende Hefen befähigt, elementaren Stickstoff zu assimilieren? *Antonie van Leeuwenhoek* **9**, 133 (1943). — [3] SCHANDERL, H.: Zbl. Bakter. II. Abtlg. **101**, 401 (1940). — [4] SCHANDERL, H.: *Botanische Bakteriologie und Stickstoffhaushalt der Pflanzen auf neuer Grundlage*, 198 S. Stuttgart: Verlag Eugen Ulmer (1947). — [5] SCHEFFER, F. u. KÜSTER, E.: Untersuchungen über N-Bindung durch hautbildende Hefen. *Z. Pflanzenernähr., Düng., Bodenkd.* **51** (96), 224 (1950).

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen.)

## Änderungen im Aneuringehalt von Algen (physiologischer Zustand, Licht-Dunkelwechsel)<sup>1</sup>.

Von

GERTRUD GERDES.

Mit 17 Textabbildungen.

(Eingegangen am 20. September 1950.)

Über den Aneuringehalt höherer Pflanzen gibt es zahlreiche Arbeiten (z. B. RYTZ 1939, BURKHOLDER und McVEIGH 1940, BONNER 1942, HURNI 1944, GUSTAFSON 1947, 1948, WILSON 1947); über den von Algen liegen außer einigen Angaben bei Meeresalgen (NORRIS, SIMEON und WILLIAMS 1937) nur die Untersuchungen von v. WITSCH (1946, 1948 b) vor, wonach *Chlorellazellen* mit zunehmendem Alter (stärkere Verfettung) ärmer an Aneurin werden. Es liegt also noch ein weites Feld zur Bearbeitung offen.

### Methodik.

#### 1. Der Aneurintest.

Zur Bestimmung des Aneuringehaltes wurde der *Phycomyces*-Wachstumstest nach SCHOPFER und JUNG (1937) verwendet. Neben dem Aneurin selbst können auch seine Komponenten Pyrimidin + Thiazol, sein Pyrophosphatester (Co-Carboxylase) und einige Derivate wirksam sein (vgl. ROBBINS und KAVANAGH 1937, SCHOPFER und JUNG 1937, 1938, SCHOPFER 1939, HURNI 1944). Daneben beeinflussen Spurenelemente (SCHOPFER 1939) und Hypoxanthin (ROBBINS und KAVANAGH 1942, HURNI 1945) das Wachstum von *Phycomyces*. Zusatz von Spurenelementen erwies sich in eigenen Versuchen als unwirksam, vermutlich deshalb, weil der als Nährstoff verwendete Zucker genügende Mengen Spurenelemente enthielt. Hypoxanthin konnte nicht beschafft werden, erübrigt sich auch (HURNI 1945), wenn man das Wachstum lange genug (länger als 7 Tage) vorsichgehen läßt. In den nachstehenden Untersuchungen ist unter Aneurin daher alles das zu verstehen, was auf *Phycomyces* unter konstanten optimalen Kulturbedingungen in einem Algenextrakt wachstumsermöglichend und -fördernd wirkt.

Als Nährlösung wurden 30 g Rohrzucker (handelsüblicher Kristallzucker), 1 g Asparagin (HOFFMANN-LA ROCHE), 0,5 g  $\text{MgSO}_4 \cdot 7 \text{H}_2\text{O}$  (MERCK, p. a.) und 1,5 g  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (MERCK puriss.) in 1 l Aqua bidest. verwendet ( $\text{pH} = 5,6$ ). Anfänglich wurde wegen Beschaffungsschwierigkeit des Asparagins das Ammoniumsalz der Asparaginsäure mit gutem Erfolg benutzt (hergestellt durch Zugabe von 1,28 cm<sup>3</sup> 10%igem Salmiakgeist auf 1 g Asparaginsäure je 1000 cm<sup>3</sup> Nährlösung). Auch BERNHARD und ALBRECHT (1947) zeigten, daß beide N-Quellen gleiche Wirksamkeit haben.

<sup>1</sup> Teilergebnisse einer Dissertation der Mathematisch-naturwissenschaftlichen Fakultät in Göttingen, 1950.



Im übrigen wurde beim Ansetzen und Ernten der Testkulturen wie bei v. WITSCH (1948a) verfahren. Von jeder zu testenden Substanz wurden 2—3 Verdünnungsstufen mit je 3—5 Parallelen angesetzt, daneben jedesmal neu eine Serie mit synthetischem Aneurin (MERCK) für die Aufstellung einer Testkurve. Die angegebenen Aneurinwerte sind aus den (graphisch) erhaltenen Einzelwerten der verschiedenen Ansätze einer Testsubstanz gemittelt (mittlerer Fehler durchschnittlich 1—3%) und beziehen sich auf 1 g Trockensubstanz.

## 2. Die Kultur von *Scenedesmus*.

Nach den Erfahrungen über das Wachstum von *Diatomeen* (HARDER und v. WITSCH 1942, v. DENFFER 1948b) und der Grünalge *Chlorella spec.* (v. WITSCH 1948c) in Durchlüftungsrohren wurden diese auch für meine Versuchsobjekte (*Scenedesmus*-Arten) als Kulturgefäße benutzt (25 cm lange und 3 cm weite Glasrohre, unten trichterartig zu einer Düse ausgezogen). Sie wurden mit 100 cm<sup>3</sup> Nährlösung gefüllt. Durch eine Pumpe wurde in die Rohre von unten Luft aus dem Freien gepreßt, die zur Reinigung mit Glaswolle und Watte gefüllte WULFFsche Flaschen passiert hatte. Es kam nur Frischluft ohne besonderen Zusatz von CO<sub>2</sub> zur Verwendung. Durch den Luftstrom wurden die absinkenden Algen immer wieder hochgerissen.

Die Durchlüftungsrohre wurden in einem Dunkelmzimmer im Halbkreis um eine gekühlte 300 Watt Lampe aufgehängt. Der Abstand von der Lampe betrug 22 cm, die Lichtintensität in diesem Abstand durchschnittlich 4000 Lux. An der Rückseite der Kulturgefäße wurde weißes Filtrierpapier befestigt und auch die Grundfläche damit bespannt; dadurch stieg die Lichtintensität an den Rohren auf 6—7000 Lux.

Die Kulturen wurden täglich 16 Std belichtet, wobei die 8stündige Dunkelphase aus technischen Gründen (Stromsperre am Tage) auf den Tag verlegt wurde. Zur Verdunklung wurden die Rohre mit einem lichtdichten, schwarzen Tuch umwickelt.

Die Nährlösung (pH = 5,8) in den Rohren bestand aus 1000 cm<sup>3</sup> Grundlösung (= 985 cm<sup>3</sup> Aqua bidest. + 15 cm<sup>3</sup> Erdabkochung) mit Zusatz von 100 mg MgSO<sub>4</sub> · 7 H<sub>2</sub>O (MERCK p. a.), 40 mg KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> (MERCK puriss.), 550 mg KNO<sub>3</sub> (KAHLBAUM p. a.) und 5,8 mg Eisenlactat.

Die zum Impfen verwendeten Algen wurden in 300 cm<sup>3</sup> ERLÉNMEYER-Kolben angezogen (30 cm<sup>3</sup> der vorstehenden Nährlösung). Im Abstand von 2—3 Wochen wurden die Algen übergeimpft, und zwar immer in mehrere Kolben, die in 2 Gruppen aufgeteilt wurden, wovon die erste zur Weiterzucht, die zweite zum Beimpfen der Durchlüftungskulturen diente. Alle Anzuehtkulturen standen an einem NW-Fenster und wurden täglich geschüttelt, um ein längeres Absetzen der Algen zu verhindern.

Die Impfdichte<sup>1</sup> in den Durchlüftungsrohren wurde möglichst niedrig gewählt, meistens 1 Zelle pro 1/100 mm<sup>3</sup> der Nährlösung, das sind 10<sup>7</sup> Zellen in 100 cm<sup>3</sup>, also pro Rohr. Nach PRATT (1939) und v. DENFFER (1948b) erreichen zwar *Chlorella*- bzw. *Diatomeen*-Kulturen unabhängig von der Impfmenge alle den gleichen Endwert in der Zellenzahl, doch ist natürlich die Vermehrung der Einzelzellen (ausgedrückt durch die Teilungsrate) am größten in denjenigen Kulturen, die mit geringen Zellmengen beimpft wurden (nach PRATT 0,1—1000 Zellen pro mm<sup>3</sup>). Für meine Versuche war es wichtig, bei der jeweiligen Ernte der Kulturen ein Zellmaterial zu haben, das von wenigen Zellen ausgehend, durch viele Teilungsschritte

<sup>1</sup> Die Anzahl der Zellen wurde in einer Zählkammer (THOMA-ZEISS) bestimmt (Mittelwerte aus mindestens 6 Einzelzählungen).

homogenisiert, sich in möglichst gleichem physiologischem Zustand befand. Auch sollte durch eine geringe Impfmenge vermieden werden, daß mit der Impfflüssigkeit eventuell Hemmstoffe, die von den Algen in die Kulturflüssigkeit abgeschieden werden (PRATT und FONG 1940, v. DENFFER 1948a), in größerer Menge aus den AnzuchtKolben in die Versuchsgefäße übertragen wurden.

Das Wachstum in den einzelnen Durchlüftungsrohren war trotz gleicher Beimpfung und Beleuchtung nicht immer ganz gleich. Um die Unterschiede zwischen den Rohren auszugleichen, wurde der Inhalt sämtlicher Rohre einer Versuchsgruppe vermischt und dann wieder zu je 100 cm<sup>3</sup> auf die Rohre verteilt. Diese Durchmischung wurde stets 24 Std und dann noch einmal unmittelbar vor Beginn der Ernte ausgeführt.

Der Zeitpunkt der Ernte hing von der Fragestellung der einzelnen Versuche ab. Wenn nicht ausdrücklich betont (Kap. B 3), wurde morgens, also am Ende der Lichtphase, geerntet. Die Anzahl der zu erntenden Kulturen richtete sich jeweils nach der Zelldichte. Sie schwankte zwischen 1 und 5, d. h. Algen aus 100—500 cm<sup>3</sup> Kulturflüssigkeit waren nötig, um genügend Substanz für den Aneurintest zu liefern. Die Algen wurden von der Nährlösung abzentrifugiert und in austarierten Zentrifugengläschen bei 103° C im Trockenschrank 4 Std getrocknet. Nach dem Abkühlen im Exsiccator wurde das Trockengewicht bestimmt.

In den durchlüfteten Kulturen wurden bei Verwendung von bakterienfreien Stämmen auch nach 14 Tagen niemals erkennbare Verunreinigungen durch Bakterien oder Flagellaten beobachtet. Gelegentlich kamen aber Infektionen durch *Chlorella* vor. Die infizierten Kulturen schieden aus, sofern je 100 *Scenedesmus*-Zellen mehr als 10 *Chlorella*-Zellen gezählt wurden.

## II. Die Versuche.

### A. Der Aneuringehalt von Freilandalgen.

#### 1. Süßwasseralgen.

Die Algen wurden in verschiedenen Gewässern gesammelt<sup>1</sup>, sofort ins Laboratorium getragen, auf Formenreinheit geprüft, mit Aqua dest. gespült, zu Klumpen geballt auf Filtrierpapier leicht abgetupft und in Abdampfschälchen bei 103° C im Trockenschrank getrocknet.

a) Einfluß der Jahreszeit. Eine *Zygnema*-Art, *Spirogyra Weberi* und *Cladophora glomerata*, die völlig oder fast völlig artreine, vegetative Bestände an ihren Göttinger Standorten bildeten, wurden im Laufe des Sommers 1947 immer wieder in Form großer Watten auf ihren Aneuringehalt untersucht (*Zygnema* zwischen 14. Mai und 7. August 9 mal). Die erhaltenen Zahlen lagen immer um den Mittelwert (für *Zygnema*  $1,59 \pm 0,09$  γ/g Tgw., für *Spirogyra*  $1,89 \pm 0,31$  und für *Cladophora*  $4,04 \pm 0,1$ ).

Irgendeine Änderung im Laufe der Monate Mai-August war nicht vorhanden.

b) Einfluß des Alters. An den vorgenannten Algen kann man die „Teilungsphase“, d. h. den Jugendzustand, daran erkennen, daß die Watten dunkelgrün und die Zellen kurz, mit gut erkennbaren Chloroplasten sind. In der „Speicherphase“, also im Alter, sind die Zellen länger, die Chloroplasten durch viele Reservestoffe verdeckt und die Watten

<sup>1</sup> Meistens in den frühen Nachmittagsstunden (vgl. Kap. B 3).

daher schon makroskopisch blasser gefärbt (Hauptmasse in Versuchsgruppe a). Im jungen Zustand hatten die Algen ein Vielfaches an Aneurin wie die alten (Tab. 1).

Tabelle 1. Aneuringehalt ( $\gamma/g$  Tgw.) junger und alter Algenzellen.

Art und Sammeltag		jung	alt
<i>Zygnema spec.</i>	7. 8. 1947 . . . . .	4,45	1,57
<i>Spirogyra Weberi</i>	8. 5. 1947 . . . . .	7,5	1,57
<i>Cladophora glom.</i>	21. 5. 1947 . . . . .	4,2	1,9

c) Einfluß von Zygotenbildung. Vegetative und fruktifizierende Stadien konnten von *Sphaeroplea annulina*, *Vaucheria racemosa* und *Spirogyra gracilis* untersucht werden.

Bei *Vaucheria* fielen 1947 beim Säubern die Zygoten aus den Oogonien heraus und sammelten sich auf dem Boden der zum Reinigen benutzten Schalen; so konnten die Zygoten und Fäden einzeln getestet werden.

Tabelle 2. Aneuringehalt von vegetativen und fruktifizierenden Algen.

Alge	Sammeltag	Beschreibung des Entwicklungsstadiums	$\gamma B_1/g$ Tgw.
<i>Sphaeroplea annulina</i>	6. 5. 1947	vegetativ, Fäden zum Teil mit Eizellen, grün . . . . .	1,43
	16. 5. 1947	fruktifizierend, mit dicken Zygoten, Fäden gelbrot . . . . .	0,5
	20. 5. 1947	Zygoten zum Teil ausgefallen, Fäden rot . . . . .	0,35
<i>Vaucheria racemosa</i>	20. 4. 1947	fruktifizierend, Fäden blaßgrün . .	1,4
		Zygoten . . . . .	0,94
	2. 4. 1949	vegetativ, Fäden zartgrün . . . . .	4,19
	22. 4. 1949	fruktifizierend, Zygoten zum Teil schon ausgefallen, Fäden blaß gelbgrün . . . . .	0,9
<i>Spirogyra gracilis</i>	22. 5. 1949	vegetativ, Fäden zart, kräftig grün .	4,13
		fruktifizierend, viele Zygoten . . . .	1,65

Der Aneurinwert des fruktifizierenden Materials lag stets unter dem der vegetativen Fäden (Tab. 2). Dieses Ergebnis stützt das im vorigen Kapitel (b) Gesagte: Der Aneuringehalt nimmt mit zunehmendem Alter ab. Aber auch die Zygoten hatten keinen höheren Aneuringehalt als die Fäden; bei *Vaucheria* lag er sogar



noch etwas unter dem der Fäden. Die Algen unterscheiden sich also in diesem Punkt von höheren Pflanzen, deren Samen meist eine größere Menge Aneurin speichern und es dann beim Auskeimen der jungen Pflanze zur Verfügung stellen (RYTZ 1939, *Pisumsamen*). Vermutlich synthetisiert also der Algenkeimling das zu seiner Entwicklung notwendige Aneurin sofort selbst.

**Zusammenfassung:** Innerhalb eines Entwicklungszyklus ist der Aneuringehalt in der Teilungsphase höher als in der Speicherphase: er nimmt mit zunehmendem Alter der Zellen ab, ebenso bei der Bildung von Zygoten. Die Jahreszeit als solche bleibt dagegen ohne Einfluß.

## 2. Meeresalgen.

Das untersuchte Material stammt zum Teil aus der Ostsee (Kieler Förde), zum Teil aus der Nordsee (Sylt). Das Ostseematerial wurde Anfang Oktober 1948 während eines Aufenthaltes am Institut für Meereskunde in Kiel in der Strander Bucht aus 6—12 m Tiefe gedredgt. Außerdem wurden Flachseeformen in der Uferregion bei Kitzberg und Laboe gesammelt<sup>1</sup>. Die Nordseetalgen wurden Ende April 1949 bei der biologischen Station Ellenbogen und im Rantumbecken auf Sylt gesammelt. Die Algen wurden sofort gereinigt und bei 103° C getrocknet; die Aneurinbestimmung erfolgte in Göttingen.

### a) Verteilung des Aneurins im Thallus derber Tange.

*Laminaria saccharina* und *Laminaria digitata*. Die beiden Arten wurden in 1/2—1 m langen Exemplaren in der Strander Bucht gedredgt. Aus jedem Exemplar wurde ein etwa 2 cm<sup>2</sup> großes Stück über dem Stielansatz aus der Basis des „Blattes“ geschnitten, um die interkalare Wachstumszone zu erfassen, und ein ebenso großes (oder größeres, je nachdem wie weit das „Blatt“ frei von tierischem und pflanzlichem Bewuchs war) aus dem oberen Teil des Thallus. Außerdem wurden Stiel und Haftkrallen je für sich getestet.

Bei beiden *Laminaria*-Arten übertraf die interkalare Wachstumszone die oberen Teile des „Blattes“ im Aneuringehalt um das 5,5 bzw. 3,6fache (Werte bei *L. saccharina* 7,25 und 1,31, bei *digitata* 9,35 und 2,56  $\gamma$ /g Tgw.). Bestimmungen an Krallenstücken ergaben sehr schwankende Werte von 2,8, 5,9 und 7,4  $\gamma$  Aneurin/g Tgw., der Stiel von *saccharina* enthielt 2,96  $\gamma$ /g Tgw.

*Fucus vesiculosus*. Das reichlich vorliegende Material von *Fucus* (Ufer Kitzberg) erlaubte es, aus den Gabelungen vieler Thallusspitzen (Sitz der Scheitelzelle) nur wenige Quadratmillimeter große Stückchen herauszuschneiden und für sich zu testen (Aneuringehalt 8,8  $\gamma$ /g Tgw.). Für andere Bestimmungen wurden größere Abschnitte eines Thallus verwendet. Die gefundenen Werte (für ein weibliches und ein männliches Exemplar im Bilde vereinigt) gehen aus Abb. 1 hervor.

Den höchsten Aneurinwert wiesen die Scheitelzellen mit dem umliegenden Meristem auf, am niedrigsten war er in den basalen Thallus-

<sup>1</sup> Herrn Prof. HOFFMANN möchte ich für die Zurverfügungstellung der Hilfsmittel seines Institutes sowie für seine freundliche Hilfe, insbesondere beim Bestimmen der Algen, herzlich danken.

abschnitten. Dazwischen lagen die Werte für die Konzeptakeln und die Schwimmblasenregion. An den Haftscheiben (und ebenso an den Haftkrallen von *Laminaria*, also nicht meristematischen Geweben) war dann der Aneuringehalt wieder etwas höher, wofür eine Erklärung nicht gegeben werden kann. Es besteht also mit Ausnahme der Haftscheibe ein Aneuringefälle in Richtung der wachsenden Entfernung von der Scheitelzelle.

Bei den der Abb. 1 zugrunde liegenden Exemplaren waren die Konzeptakeln der weiblichen Pflanze aneurinreicher, weitere Bestimmungen an weiblichen Konzeptakeln ergaben aber Werte von 3,14—5,4  $\gamma/g$  Tgw. Es bestehen also keine Differenzen zwischen männlichen und weiblichen Konzeptakeln. Das ist erklärlich, da die Konzeptakeln vegetativen Ursprungs sind, und die in den Oogonien und Antheridien enthaltenen Gameten nur einen Bruchteil des Gewichtes ausmachen.

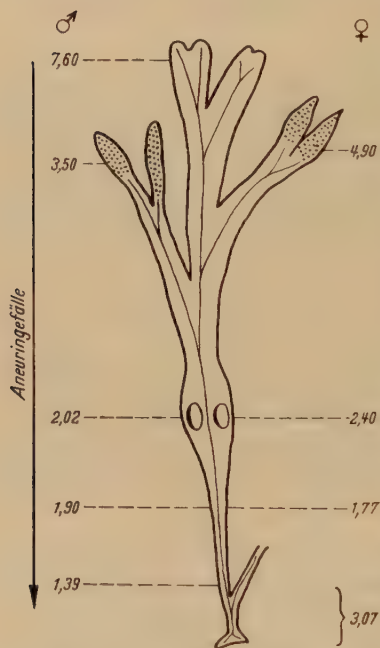


Abb. 1. Aneurinverteilung ( $\gamma/g$  Tgw.) bei *Fucus vesiculosus*.

b) Einfluß des Alters. Verschiedene Exemplare der braunen Meersaite *Chorda filum* (Strander Bucht) wurden ihrer Länge nach in 3 Altersgruppen aufgeteilt: 1. 10—20 cm, 2. 30—40 cm und 3. 60 cm Länge. Von der roten *Dumontia filiformis* (Watt am Ellenbogen) wurden ganz junge, gerade gekeimte Exemplare neben älteren, deren Thallus schon weiter entfaltet war, gesammelt und dann ebenfalls in 3 Altersgruppen eingeteilt: 1. 2 bis 3 cm, 2. 5—6 cm und 3. 12—15 cm Länge. Schließlich lieferte die Rotalge *Delesseria sinuosa* gutes Material verschiedenen Alters. Dieses (Strander Bucht) war gerade im treibenden Zustand (junge Blättchen als Seitenverzweigung am Rand des blattförmigen Thallus).

Aus Tab. 3 ergibt sich eindeutig, daß auch bei Meeresalgen der Aneuringehalt mit zunehmendem Alter des Individuums abnimmt.

Tabelle 3. Aneuringehalt ( $\gamma/g$  Tgw.) bei Meeresalgen verschiedenen Alters.

Altersgruppe	<i>Chorda filum</i>	<i>Dumontia filiformis</i>	<i>Delesseria sinuosa</i>
1.	3,12	4,25	3,75
2.	2,06	3,12	
3.	1,26	2,47	2,14

Tabelle 4. Aneuringehalt ( $\gamma/g$  Tgw.) verschiedener Meeresalgen. Ort I Sylt (25. bis 27. April 1949), Ort II Kieler Bucht (7. bis 9. Oktober 1948), Ort III Göttingen, Flußwasser<sup>1</sup> (30. Juni 1947), Ort IV Göttingen, Süßwasser (10. Juni 1949).

Klasse	Familie	Gattung und Art	Ort	$\gamma B_1/g$ Tgw.
Chlorophyceae	Bryopsidaceae	<i>Bryopsis plumosa</i> . . . . .	I	5,9
	Cladophoraceae	<i>Chaetomorpha linum</i> . . . . .	I	3,3
	Ulvaceae	<i>Enteromorpha intestinalis</i> . . . . .	II	8,2
		<i>Enteromorpha intestinalis</i> . . . . .	II	7,8
		<i>Enteromorpha compressa</i> . . . . .	I	6,2
		<i>Enteromorpha linza</i> . . . . .	I	4,68
		<i>Ulva lactuca</i> . . . . .	I	4,88
		<i>Ulva lactuca</i> . . . . .	II	3,9
		<i>Enteromorpha intestinalis</i> . . . . .	III	1,16
Phaeophyceae	Ectocarpaceae	<i>Ectocarpus siliculosus</i> . . . . .	II	1,15
		<i>Ectocarpus cf. confervoides</i> . . . . .	I	0,93
		<i>Pylaiella litoralis</i> . . . . .	I	1,67
	Sphacelariaceae	<i>Sphacelaria cirrhosa</i> . . . . .	II	1,98
	Encoeliaceae	<i>Phyllitis fascia</i> . . . . .	I	2,1 <sup>2</sup>
	Chordaceae	<i>Chorda filum</i> . . . . .	II	1,54 <sup>2</sup>
Rhodophyceae	Bangiaceae	<i>Bangia fuscopurpurea</i> . . . . .	I	7,88
		<i>Porphyra laciniata</i> . . . . .	I	2,82
	Nematomataceae	<i>Furcellaria fastigiata</i> . . . . .	II	1,62
	Gigartinales	<i>Phyllophora membranifolia</i> . . . . .	II	4,15
		<i>Phyllophora Brodiaei</i> . . . . .	II	3,75
		<i>Chondrus crispus</i> . . . . .	I	2,88
	Ceramiaceae	<i>Callithamnium corymbosum</i> . . . . .	II	6,8
		<i>Ceramium rubrum</i> . . . . .	I	4,08
		<i>Ceramium rubrum</i> . . . . .	II	3,3
	Delesseriaceae	<i>Delesseria alata</i> . . . . .	II	2,6
		<i>Delesseria sanguinea</i> . . . . .	II	
		a) Mittelrippen . . . . .		1,34
		b) alte zerfallene „Blätter“ . . . . .		1,66
	Rhodomelaceae	<i>Rhodomela subfusca</i> . . . . .	II	3,04
		<i>Polysiphonia urceolata</i> . . . . .	II	5,56
		<i>Polysiphonia nigrescens</i> . . . . .	I	4,88
		<i>Polysiphonia nigrescens</i> . . . . .	II	3,96
		<i>Polysiphonia elongata</i> . . . . .	I	3,67
	Helminthocladiaceae	<i>Batrachospermum moliniiforme</i> . . . . .	IV	6,0

<sup>1</sup> Die Werra bei Witzenhausen ist durch Abwässer von Salzbergwerken ziemlich salzhaltig.

<sup>2</sup> Die Werte sind aus mehreren (bei *Chorda* 6) einzeln getesteten Exemplaren gemittelt.

c) Die Aneurinwerte kleinstenfalls, als Ganzes getesteter Meeresalgen.

Aus Tab. 4 ergibt sich, daß die Werte in weitem Umfang schwanken (0,93  $\gamma/g$  Tgw. bei *Ectocarpus confervoides*, 8,2 bei *Enteromorpha intesti-*



*nalis*). Man sieht sofort, daß diese Unterschiede nicht etwa familien- und ebenso wenig klassenbedingt sind.

Bei den Braunalgen ist zwar der höchste Wert in der Tabelle 1,98, aber in Abschnitt a) haben wir ja für bestimmte Stellen des Thallus von *Fucus* 7,6 und von *Laminaria* sogar 9,35  $\gamma$  kennengelernt. Die Werte der gesamten Thalli können daher nur beschränkten Wert haben. Je nachdem ob in der Pflanze die meristematischen oder die Dauergewebe überwiegen, dürften die Aneurinzahlen ganz verschieden ausfallen. Die Tabelle zeigt aber, daß allgemein fädige Formen höhere Aneurinwerte haben als flächenförmige Tange. So finden wir z. B. ein Abfallen des Aneurin gehaltes unter den *Ulvaceae* von *Enteromorpha intestinalis* über *Enteromorpha Linza* zu *Ulva lactuca*. Ebenso hat *Bangia fuscopurpurea* gegenüber *Porphyra laciniata* den 3fachen Gehalt an Aneurin. Doch kommen durchaus auch Ausnahmen von der Regel vor (so sind die Werte der *Ectocarpaceae* und von *Sphacelaria* überraschend niedrig). Bei knorpeligen oder sonstwie derben Formen sind wegen ihres relativ hohen Trockengewichtes keine hohen Aneurinwerte zu erwarten (Art der Berechnung des Aneurin gehaltes!).

Wie oben ausgeführt, ist der physiologische Zustand für die Höhe des Aneurin gehaltes ausschlaggebend, so daß auch ein Vergleich mit den in Kap. I behandelten Süßwasseralgen nur bedingten Wert hat. Bei den *Chlorophyceae* hatte als Süßwasserform *Zygnema* im Mittel 1,5  $\gamma$  Aneurin, dagegen finden wir bei Meeresalgen Werte von 3,3—8,2  $\gamma$ . *Enteromorpha intestinalis* der Ostsee hatte einen Aneurin gehalt von 8,2  $\gamma$ , die gleiche Art aus der Werra nur 1,16  $\gamma$ . Ob man daraus schließen darf, daß die Meeresalgen mehr Aneurin enthalten als die Süßwasserfadenalgen, ist wohl sehr zweifelhaft, zumal die Werra durch Verunreinigung aus Salzbergwerken einen ziemlich hohen Salzgehalt hat (ganz besonders im trockenen Sommer 1947). Bei den Rotalgen, von denen nur eine Süßwasserform vorliegt, nämlich *Batrachospermum moliniiforme*, lag der Wert mit 6  $\gamma$  im gleichen Bereich wie bei den Meeresalgen. Beim Vergleich zwischen den Süßwasser- und Meeresalgen muß dann auch noch die Möglichkeit in Betracht gezogen werden, daß mit den Meeresalgen eine besonders günstige Spurenelementmischung in den Testextrakt gelangte. Nach SCHOPFER und UTIGER (1941) bewirkt Meerwasserzusatz zur Nährlösung in Gegenwart von Aneurin eine Erhöhung des *Phycomyces*-Trockengewichtes. Die allgemein höheren Werte der Meeresalgen könnten daher teilweise auch dadurch mit bedingt sein.

Von dieser Einschränkung bleiben die Ergebnisse über die Verteilung des Aneurins im Thallus und die Beziehung zum Alter der Algen unberührt, auch dann, wenn die angegebenen Werte nur relativen Charakter haben sollten.

Erwähnt sei noch, daß NORRIS, SIMEON und WILLIAMS (1937) in ihren Aneurinbestimmungen (Rattentest) an einigen Meeresalgen ähnliche Werte fanden, so bei *Laminaria* 7,5  $\gamma$ <sup>1</sup>, bei *Ulva lactuca* 6  $\gamma$  und bei *Enteromorpha* Spuren. Größenordnungsmäßig decken sich diese Werte bei *Laminaria* und *Ulva* mit unseren eigenen, während der *Enteromorpha*-Wert wohl zu niedrig ist.

Ganz allgemein läßt sich aus der Gesamtheit der in Kap. A 1 u. 2 angegebenen Werte folgern, daß Süßwasser- und auch Meeresalgen gegenüber den bekannten Aneurinwerten bei Pflanzen keine Sonderstellung einnehmen.

HURNI (1944) gibt für *Melandrium* Werte um 10  $\gamma$ /g Tgw., SAGROMSKY (1947) für Baumpollen 1,4 bis 4,7  $\gamma$ /g Tgw. an. Aus einer Tabelle über den Vitamin B<sub>1</sub>-Gehalt

<sup>1</sup> Die Werte sind dort in SHERMANN-Einheiten angegeben. 1 SHERMANN-Einheit = 1,5  $\gamma$ , festgesetzt auf der internationalen Vitaminkonferenz 1938.

von menschlichen Nahrungsmitteln (ABDERHALDEN 1944) seien genannt: Kartoffeln 1,0, Spinat 0,6, Weizenvollkornbrot 2,1, Bäckerhefe 20, Schweinefleisch 6,6, Ochsenfleisch 1  $\gamma$ /g Tgw.

## B. Aneuringehalt von *Scenedesmus*-Reinkulturen.

### 1. Die Aneurinproduktion von 10 *Scenedesmus*-Stämmen.

Die verschiedenen Arten einer Gattung können bekanntlich nicht nur morphologisch, sondern auch physiologisch verschieden sein (z. B. IGGENA 1938, unterschiedliche Vermehrungsintensität von *Scenedesmus*-Arten bei intermittierender Beleuchtung; GAFFRON und WOHL 1936, verschiedene photosynthetische Leistungen von *Chlorella*-Arten). Über unterschiedliche Fähigkeit zur Aneurinsynthese bei Algen liegen nur indirekte Angaben vor. ONDRATSCHEK (1940) zog aus dem Verhalten von 4 *Horridium*-Arten in synthetischer Nährlösung mit und ohne Aneurinzusatz den Schluß, daß offenbar zwei von ihnen künstlichen Aneurinzusatzes bedürfen, die beiden anderen nicht.

In den folgenden Versuchen mit 10 *Scenedesmus*-Stämmen, die ich der Freundlichkeit von Herrn Professor STEINER verdanke, sollte aber nicht deren Aneurinbedürfnis, sondern ihr vielleicht unterschiedlicher Aneuringehalt, also quantitative Verschiedenheiten in ihrer Synthesefähigkeit, festgestellt werden. Von jedem Stamm<sup>1</sup> wurden drei Durchlüftungsröhre angesetzt und mit einer Zelle auf  $1/_{100}$  mm<sup>3</sup> Nährlösung beimpft. Nach 6, 12 und 18 Tagen wurde der Inhalt je eines Rohres geerntet, Zellenzahl, Trockengewicht und später der Aneuringehalt bestimmt; die Werte sind in Tab. 5 zusammengefaßt; der Aneuringehalt ist außerdem in Abb. 2 dargestellt.

Tabelle 5. Zellenzahl, Trockengewicht und Aneuringehalt von 10 *Scenedesmus*-Stämmen im Verlauf einer 18tägigen Kulturperiode (Anfangszellenzahl am 28. 5. überall 1 in  $1/_{100}$  mm<sup>3</sup>).

Art	Stamm	Zellenzahl in $1/_{100}$ mm <sup>3</sup>			Trockengewicht in mg/100 cm <sup>3</sup> Nährlösung			Aneurin in $\gamma$ /g Tgw.		
		3. 6.	9. 6.	15. 6.	3. 6.	9. 6.	15. 6.	3. 6.	9. 6.	15. 6.
<i>Scen. obliquus</i>	1	98	318	—	28	99	—	4,7	0,31	—
	2	122	304	632	31	90	178	4,75	0,44	1,95
	3	77	304	420	32	123	185	5,0	1,8	1,6
<i>Scen. bijugatus</i>	4	46	269	372	37	127	196	4,2	2,6	1,88
	5	72	225	392	31	140	228	4,29	1,95	1,45
<i>Scen. quadricauda</i>	6	36	121	203	23	65	107	4,24	3,8	2,3
	7	13	35	65	5	23	27	4,6	2,4	2,0
	8	51	208	342	23	67	150	3,86	3,15	1,46
<i>Scen. cf. Hystrix</i>	9	12	45	189	12	69	137	2,6	2,45	2,16
	10	18	85	106	26	82	176	1,47	1,5	1,5

Aus Tab. 5 und Abb. 2 geht hervor, daß alle Kulturen Aneurin enthielten, und zwar war der Aneuringehalt aller Stämme am 6. Kulturtag

<sup>1</sup> Die Stämme 1, 2, 5 und 9 waren absolute Reinkulturen; 4, 6, 8 und 10 hatten geringe Beimischungen von Bakterien, und 3 und 7 entwickelten geringe Pilzmycelien, enthielten aber keine Bakterien. Ob die Verunreinigungen eine Rolle spielten, läßt sich nicht sagen. Jedenfalls waren aber die Stämme 1, 2, 5 und 9 einwandfrei.

am höchsten und am 18. am niedrigsten; nur bei Stamm 10 blieb er gleich<sup>1</sup>. Auf diese Beziehung des Aneuringehaltes zum Alter der Kultur werden wir unten (Kap. B 2b) noch zurückkommen.

Der Aneuringehalt der Stämme war sehr unterschiedlich; so enthielt Stamm 3 am 6. Kulturtag mit 5,0  $\gamma$  dreimal so viel als Stamm 10 mit 1,47  $\gamma$ . Die nach 6 Tagen gefundene Abstufung im Aneuringehalt (zwischen den einzelnen Stämmen) verschob sich aber später. Wir können also nicht von einer absoluten Überlegenheit eines Stammes oder einer Art sprechen, sondern müssen feststellen: Es gibt 1. Stämme, die zu

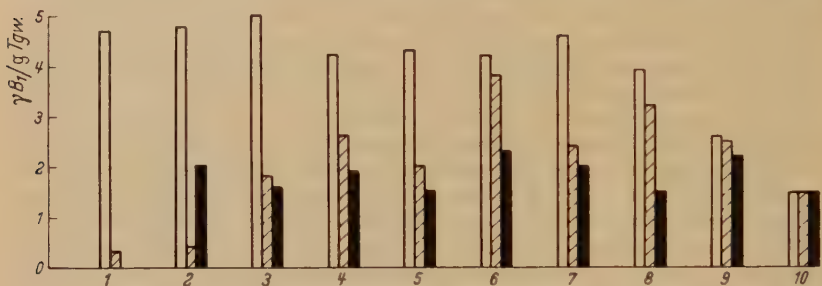


Abb. 2. Aneuringehalt der *Scenedesmus*-Stämme (1–10) nach 6, 12 und 18 Tagen Kulturdauer (6 Tage: umrissene, 12 Tage: schraffierte, 18 Tage: ausgefüllte Säulen).

Anfang einen sehr hohen Aneuringehalt aufweisen, der dann aber nach kurzer Zeit stark absinkt (*Scenedesmus obliquus*), und 2. Stämme, deren Aneuringehalt von 6 bis zu 18 Tagen regelmäßiger abnimmt (*S. bijugatus* und *quadricauda*) und 3. solche, die in ihrem Aneuringehalt nur geringe Schwankungen aufweisen (*Scen. cf. Hystrix*<sup>2</sup>).

## 2. Einfluß des physiologischen Zustandes der Zellen auf den Aneuringehalt.

a) Einfluß des Impfmateri als. Der folgende Versuch<sup>3</sup> wurde mit Kulturen von *Scenedesmus bijugatus* (5) durchgeführt, die zuletzt vor 87 (Gruppe I), 26 (Gruppe II) und 6 Tagen (Gruppe III)

<sup>1</sup> Der Wiederanstieg vom 12.—18. Tag bei Stamm 2 dürfte auf einem Versuchsfehler beruhen (evtl. nicht beachtete Infektion); er wurde in anderen, hier nicht mitgeteilten Versuchen nicht beobachtet.

<sup>2</sup> Wie weit Stämme der 3. Gruppe, die anfänglich einen sehr niedrigen Gehalt an Aneurin aufwiesen, im ONDRATSCHEKSEN Sinne „vitamin-bedürftig“ (jedenfalls teilweise) sind, also durch Zusatz von synthetischem Aneurin in ihrer Wachstumsintensität und Substanzproduktion gesteigert werden können, wurde nicht geprüft. Wie aus Tab. 12 hervorgeht, erreichten die Stämme 9 und 10 besonders geringe Zelldichte und Trockengewichtswerte. Eine Steigerung durch Aneuringaben wäre denkbar. Allerdings widersprechen dem die Verhältnisse bei den Stämmen 6 und 7. Hier standen einem relativ hohen Aneuringehalt geringe Zelldichte und entsprechend niedriges Trockengewicht gegenüber. Es ergaben sich also keine klaren Beziehungen zwischen Aneuringehalt und Zelldichte. Eine weitere Prüfung wäre notwendig gewesen; doch diese an allen Stämmen vorzunehmen, war nicht möglich.

<sup>3</sup> Ebenso alle weiteren in Kap. B 2 u. 3 beschriebenen Versuche.

übergeimpft worden waren. Die Zellen der Gruppen I und II waren gelbgrün und voll von Reservematerial, waren also im Stadium der „Speicherphase“, während die der Gruppe III, die seit drei Wochen jeden 3. Tag übergeimpft worden waren, sich in der „Teilungsphase“ befanden, und zugleich in dem Zustand, den ONDRATSCHEK als „Normalzustand“<sup>1</sup> bezeichnet.

Mit diesen 3 Materialien wurden Durchlüftungsrohre gleichmäßig beimpft (Ausgangsdichte in allen Röhren 1,4 Zellen in  $\frac{1}{100}$  mm<sup>3</sup>) und der Aneuringehalt bei Beginn sowie nach 7, 14, 21, und 28 Tagen<sup>2</sup> bestimmt. Das Ergebnis zeigt Abb. 3.

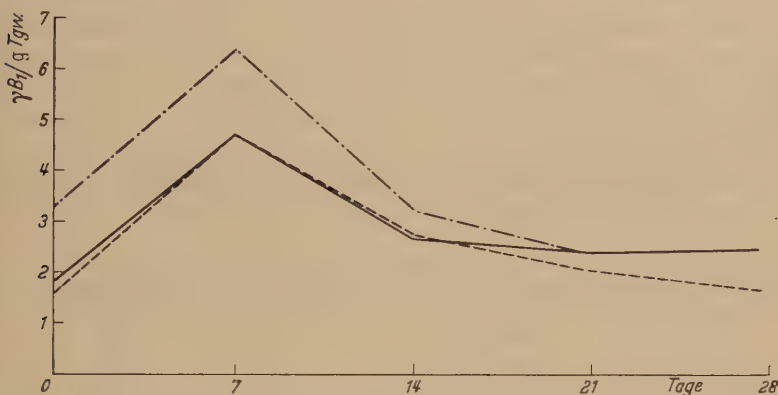


Abb. 3. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneuringehalt in  $\gamma$ /g Tgw. an verschiedenen Kulturtagen (27. 9 bis 25. 10. 1948) bei verschiedenem Alter des Impfmateri als (Gruppe I 87, Gruppe II 26, Gruppe III 6 Tage). (I gestrichelte, II ausgezogene, III Strich-Punkt-Kurve.)

Aus dem Kurvenverlauf ergibt sich, abgesehen davon, daß in allen Kulturen ein Maximum des Aneuringehaltes am 7. Kulturtag lag<sup>3</sup>, folgendes:

1. Kurve I und II decken sich praktisch, was besagt: befanden sich die Zellen bei Versuchsbeginn in der Speicherphase, so ist es gleichgültig, ob die Kulturen 26 oder 87 Tage alt waren.

2. Kurve III liegt anfangs höher als Kurve I und II; der Aneuringehalt der jungen Zellen war also anfangs größer. Doch der Anstieg der Kurve ist nicht steiler als der der anderen beiden. Vom Impftag bis zum 7. Tag verlaufen die Kurven parallel, d. h. die Aneuringproduktion der Kulturen aus dem jungen Impfmateri al war also nicht

<sup>1</sup> Nach CZURDA und ONDRATSCHEK liefert nur solches Impfmateri al reproduzierbare Ergebnisse.

<sup>2</sup> Der letzte Wert der Gruppe III konnte wegen *Chlorellainfektion* nicht verwendet werden.

<sup>3</sup> Vgl. nächstes Kapitel.



größer als die der aus den alten Zellen stammenden. Im Gegenteil, im absteigenden Teil der Kurven sinkt Kurve III stärker ab als die anderen. Man kann also keinesfalls von einer Leistungsüberlegenheit der von jungen Zellen ausgehenden Kulturen sprechen.

Der gleiche Schluß ergibt sich hinsichtlich der Zelldichte, die bisher meist neben dem Trockengewicht als Test für den Einfluß des Impfmateri als auf die physiologische Leistungskraft der Kulturen benutzt worden ist (ONDRATSCHEK 1940, v. WITSCH 1948 b, v. DENFFER 1948 b). Bei gleicher Ausgangsdichte wies Gruppe III zwar in den ersten Tagen nach Versuchsbeginn höhere Zellzahlen auf als die anderen beiden (was nach PRATT und FONG, 1940, auf die in den alten Impfzellen enthaltenen Hemmstoffe zurückzuführen ist), später (Tab. 6) glich sich das aber aus und nach 28 Tagen lagen die Werte bei allen 3 Gruppen innerhalb des bei solchen Zählungen üblichen Fehlerbereichs von 10%. Bei längerer Kultur hat der physiologische Zustand des Impfmateri als also auch auf die erreichte Zelldichte keinen Einfluß, ein Ergebnis, das sich mit dem von v. WITSCH (1948 b) an *Chlorella* und dem v. DENFFER (1948 b) an *Nitzschia palea* deckt<sup>1</sup>.

Tabelle 6. Zelldichte (Anzahl Zellen in  $1_{100} \text{ mm}^3$ ) von Kulturen von *Scenedesmus bijugatus* (5), die mit verschieden alten Zellen (I 87, II 26, III 6 Tage) beimpft wurden.

	Datum	I	II	III
	27. 9.	1,4	1,4	1,4
	29. 9.	1,6	3,8	5,5
	30. 9.	4,8	6,0	12,0
	2. 10.	37	33	91
1. Ernte . . . .	4. 10.	115	165	180
2. Ernte . . . .	11. 10.	245	265	338
3. Ernte . . . .	18. 10.	367	376	402
4. Ernte . . . .	25. 10.	413	388	420

Bei *Scenedesmus bijugatus* (5) ist also die physiologische Leistung einer Zellpopulation (Aneurinproduktion und maximal erreichte Zelldichte) vom Zustand des Impfmateri als unabhängig.

#### b) Änderung im Aneuringehalt im Verlauf einer 20tägigen Kulturperiode (Einfluß des Kulturalters).

Aus Abb. 3 ist ersichtlich, daß der Aneuringehalt im Laufe einer Kulturperiode zunächst zu-, dann abnimmt. Das ergab sich auch in zahlreichen anderen Versuchen, bei denen jedoch in kleineren Abständen

<sup>1</sup> Nach REINHARDT (1943) sollen heterotrophe *Flagellaten* hingegen nach längerer Dauer der Speicherphase nicht mehr zu neuen Zellteilungen fähig sein oder doch nicht im gleichen Maße wie Zellen im Normalzustand. Weniger extrem verhielten sich die von demselben Verfasser geprüften *Euglena*-Arten, so daß durchaus die Möglichkeit gleitender Übergänge gegeben ist, wie sie v. WITSCH (1948 b) diskutierte.

(1—3 Tage) geerntet wurde (Abb. 4). In allen Fällen erreichte der Aneuriergehalt seinen höchsten Wert zwischen dem 5. und 9. Kulturtag, dann sank die Kurve zunächst relativ steil, dann flacher werdend, wieder ab.

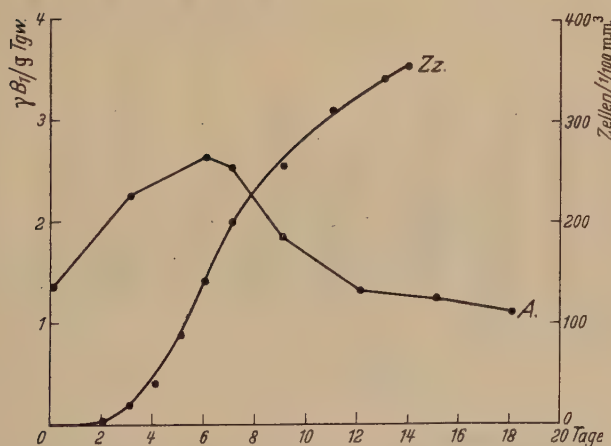
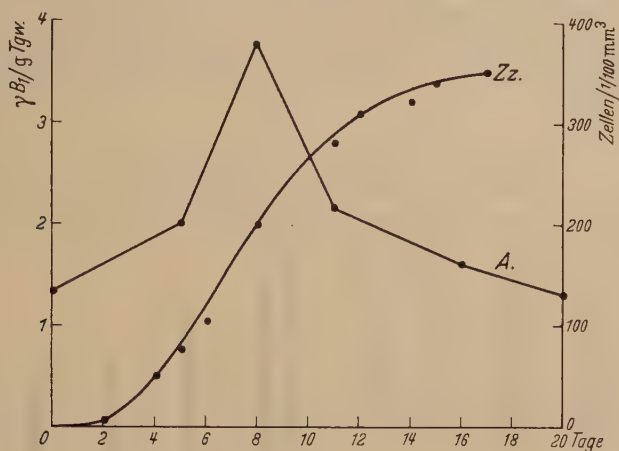


Abb. 4. *Scenedesmus bijugatus* (5) Zellenzahl (Zz.) und Aneuriergehalt (A.) mit zunehmendem Kulturalter. Oben: Versuch 27. 5.—18. 6. 1948, unten: Versuch 26. 6.—14. 7. 1948.

Daß die Kurven sich nicht genau decken, also nicht genau gleichzeitig den — verschieden hohen — Gipfel erreichen, dürfte u. a. daran liegen, daß das Impfmateriel verschieden alt war (vgl. Kap. B 2a).

Sucht man eine Beziehung zwischen der Aneurinkurve und der jeweiligen Zellenzahl in der Kultur (Populationsdichte) aufzustellen, so erhält man bei graphischer Darstellung Bilder wie in Abb. 4. Im Verlauf der S-Kurve der Zelldichte trennt der Wendepunkt Teilungs- und

Speicherphase voneinander (nach v. WITSCH 1946, 1948 c, v. DENFFER 1948 b). Mit dem Wendepunkt fällt zeitlich das Maximum der Aneurinkurve ungefähr zusammen. Damit ist für *Scenedesmus bijugatus* (5) eine Beziehung des Aneuringehaltes zum physiologischen Zustand einer Kultur gegeben: Die Teilungsphase ist durch steigenden, die Speicherphase dagegen durch sinkenden Aneuringehalt gekennzeichnet.

### 3. Tägliche Änderungen im Aneuringehalt.

Die Frage, ob der Aneuringehalt sich im Laufe eines Tages ändert und ob diese Änderung, falls sie vorhanden ist, in Beziehung zum täg-

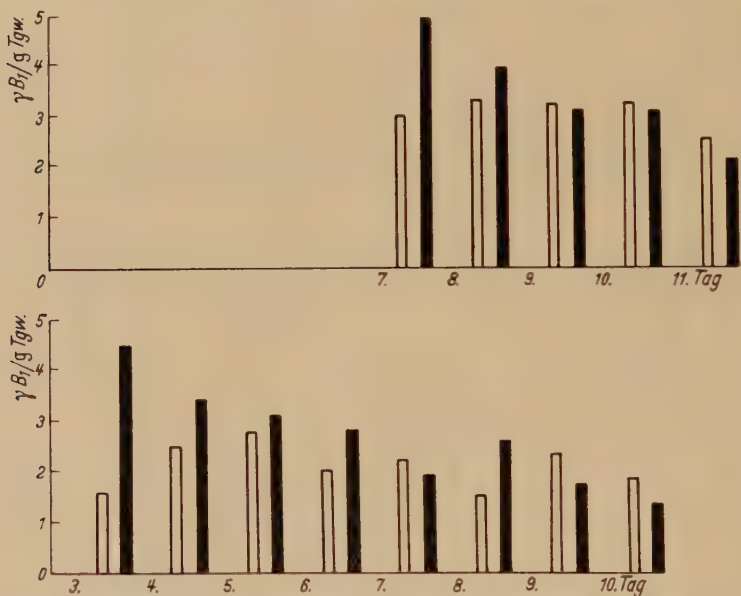


Abb. 5. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneuringehalt im Licht/Dunkelwechsel 16:8 Std (ausgefüllte Säulen Dunkelwerte, umrissene Säulen Lichtwerte). Oben: Versuch 26. 10. — 6. 11. 1948, unten: Versuch 3. — 14. 7. 1949.

lichen Licht/Dunkelwechsel steht, und ob eine vom Lichtwechsel gesteuerte Rhythmik im Aneuringehalt besteht, ist bislang nicht untersucht worden.

Um dem nachzugehen, wurden die Kulturen in verschiedener Weise einem bestimmten täglichen Wechsel von Licht und Dunkelheit ausgesetzt<sup>1</sup>. Die Ernte erfolgte jeweils am Ende der Lichtphase, unmittelbar vor dem Ausschalten des Lichtes, oder am Ende der Dunkelphase unmittelbar vor der Entdunkelung (wobei mit grünem Licht gearbeitet wurde). Die nachstehenden Werte beziehen sich zwar immer nur auf je eine Algengenernte (also keine Parallelernten

<sup>1</sup> Bei den bisher beschriebenen Versuchen wurden die Kulturen täglich 16 Std belichtet und stets am Ende der Lichtphase geerntet.

und -bestimmungen), sie können aber trotzdem als Mittelwerte angesehen werden, da vor jeder Ernte — wie in der Methodik beschrieben — der Inhalt aller zusammengehörigen Rohre (2—10) vermischt wurde und erst dann 100 cm<sup>3</sup> entnommen wurden.

Der Aneuringehalt, der am Ende der Lichtphase geernteten Kulturen soll nachstehend als Lichtwert, der der am Ende der Dunkelphase geernteten als Dunkelwert bezeichnet werden.

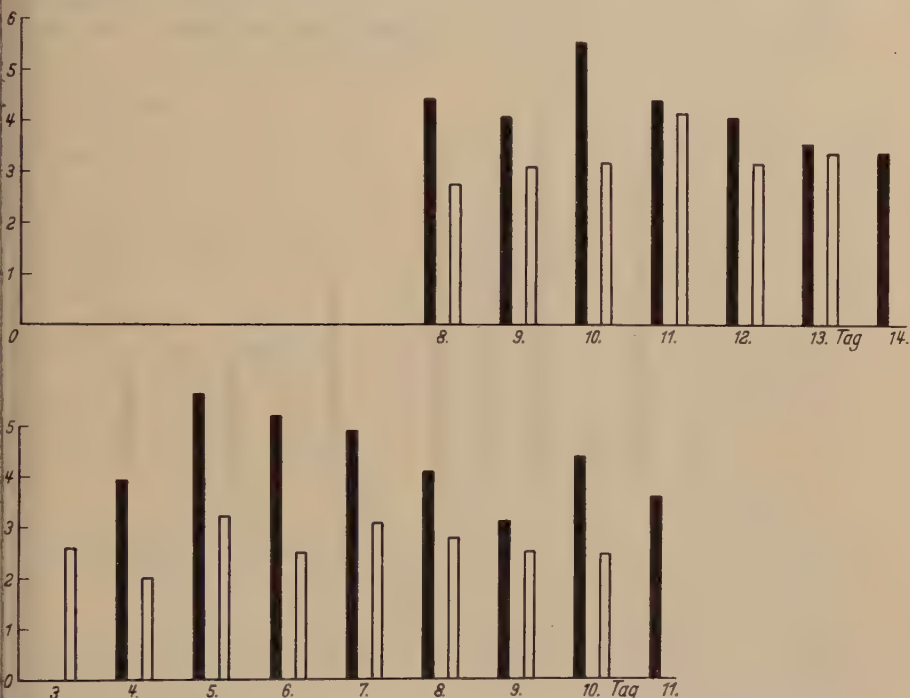


Abb. 6. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneuringehalt im Licht/Dunkelwechsel 8:16 Std (ausgefüllte Säulen Dunkelwerte, umrissene Säulen Lichtwerte). Oben: Versuch 27. 11. — 13. 12. 1948, unten: Versuch 3. — 14. 7. 1949.

a) Der Aneuringehalt nach der Licht- bzw. der Dunkelphase.

α) Licht-Dunkelwechsel 16:8 Std<sup>1</sup>.

Die Ergebnisse von 2 Versuchen, bei denen die Kulturen täglich 16 Std belichtet und 8 Std verdunkelt wurden, sind in Abb. 5 dargestellt. Beim ersten Versuch erfolgte die erste Ernte am 7. Tag, beim 2. dagegen schon am 3. Die Werte beider Versuche sind nicht absolut vergleichbar, sie zeigen aber, daß allgemein der Aneuringehalt nach der Dunkelphase (schwarze Säulen) höher war als nach der Lichtphase. Der Unterschied ist anfänglich groß (40%), gleicht sich aber immer mehr aus, und nach

<sup>1</sup> Die Dunkelstunden sind nachstehend immer unterstrichen.



Ablauf von 9—10 Tagen liegt dann der Lichtwert sogar höher als der Dunkelwert.

β) Licht-Dunkelwechsel 8:16 Std.

Wurde die Beleuchtungsdauer täglich auf 8 Std herabgesetzt, so traten die höheren Dunkelwerte noch klarer hervor (Abb. 6). Die anfänglich sehr starken Unterschiede wurden aber auch hier allmählich geringer und verschwanden beim ersten Versuch am 13./14. Tag ganz.

Im übrigen war der in Kap. B 2b (S. 66) bereits festgestellte Anstieg des Aneuringehaltes zu einem Maximalwert im Laufe einer Kulturperiode auch bei

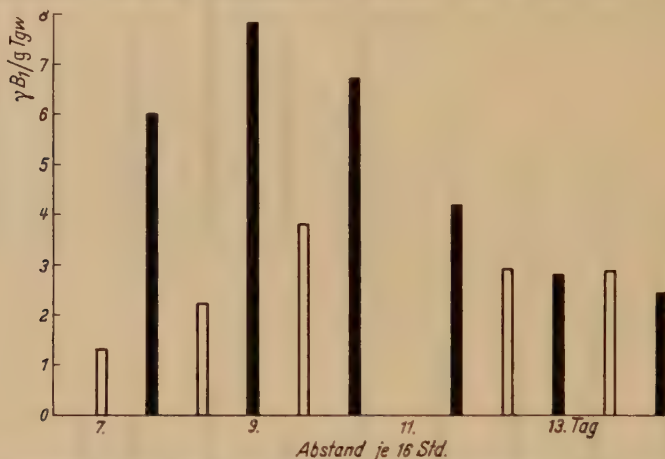


Abb. 7. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneuringehalt im Licht/Dunkelwechsel 16:16 Std (ausgefüllte Säulen Dunkelwerte, umrissene Säulen Lichtwerte). Versuch vom 9.—24. 11. 1948 mit 1. Ernte nach der 6. Lichtphase am 7. Tag.

diesen Versuchen deutlich. Dabei scheinen die Dunkelwerte ihr Maximum vor den Lichtwerten zu erreichen, wenigstens brachte in den vorliegenden Versuchen der Abfall der Dunkelwerte den Ausgleich mit den noch steigenden und dann nur langsam fallenden Lichtwerten.

γ) Licht-Dunkelwechsel 16:16 Std.

Bei gleicher, relativ großer Länge der Hell- und Dunkelphase (16:16 Std) war der Gegensatz zwischen den hohen Dunkelwerten und den niedrigen Lichtwerten besonders groß (Abb. 7); an den drei ersten Versuchstagen betrug der Aneuringehalt am Ende der Dunkelperiode das 5-, 3- bzw. 2fache des Lichtwertes. Aber auch hier glichen sich die Unterschiede allmählich aus; nach 10 maligem Licht/Dunkelwechsel (am 13. und 14. Tag nach dem Beimpfen) stieg der stark abgesunkene Aneuringehalt im Dunkeln nicht mehr über den Lichtwert hinaus. Im Laufe der Kulturperiode lag das Maximum der Dunkelwerte also wieder vor dem der Lichtwerte.

Außer den angeführten Licht/Dunkel-Wechseln wurden noch die Rhythmen 24:24, 12:12 und 8:8 Std in ihrer Wirkung auf den Aneuringehalt von *Scenedesmus bijugatus* (5) geprüft. Auch hier waren die Dunkelwerte höher als die Lichtwerte.

Weitere Kulturen, die gleichzeitig, aber unter verschiedenen Rhythmen (24 : 24, 20 : 4, 16 : 8, 16 : 16, 12 : 12, 8 : 16, 4 : 20 Std) heranwuchsen, ergaben keine vergleichbaren Aneurinwerte und zwar deshalb, weil der Vergleich aus technischen Gründen nicht über eine ganze Kulturperiode durchgeführt werden konnte, sondern nur für einen bestimmten Tag erfolgte, was aber für die verschiedenen Kulturen nicht mit einem gleichen physiologischen Zustand identisch ist. Auch darüber, ob die Bildung des Aneurins im Licht oder Dunkeln erfolgt, kann durch einfache Verlängerung oder Verkürzung der Phasen nichts gesagt werden, solange nicht die photosynthetische Leistung in allen Rhythmen gleich wäre, bzw. die Photosynthese ganz ausgeschaltet würde (GUSTAFSON 1948: Förderung der Aneurinsynthese durch das Licht, aber gedeutet als indirekte Wirkung über die Photosynthese!).

Aus der Gesamtheit der Versuche mit täglicher Bestimmung des Aneuringehalts am Ende der Licht- und der Dunkelphase ergibt sich also, daß der Aneuringehalt junger Kulturen im Dunkeln zu- und im Licht abnimmt.

b) Beziehung zwischen täglichem Aneurinwechsel und Zellteilung bei rhythmischem Licht/Dunkelwechsel.

An Durchlüftungskulturen, die unter den Beleuchtungsrhythmen 12:12, 8:16 und 16:8 Std wuchsen, wurde bei jedem Phasenwechsel die Zelldichte bestimmt. Dabei ergab sich, daß im 12:12 Std-Rhythmus im Licht nur geringe Zellvermehrung stattfand. Die Teilungen traten hauptsächlich während der Dunkelheit ein (Abb. 8 untere Kurve). Auch im 8:16stündigen Licht-Dunkelwechsel (mittlere Kurve) war die Zunahme in der Zellenzahl vorwiegend auf die Dunkelphase beschränkt (und zwar deren Ende, wie hier nicht aufgeführte Einzelzählungen ergaben). Im 16:8 Std-Rhythmus dagegen fand während der 8stündigen Dunkelheit fast keine Vermehrung statt, sondern die Zellenzahl stieg

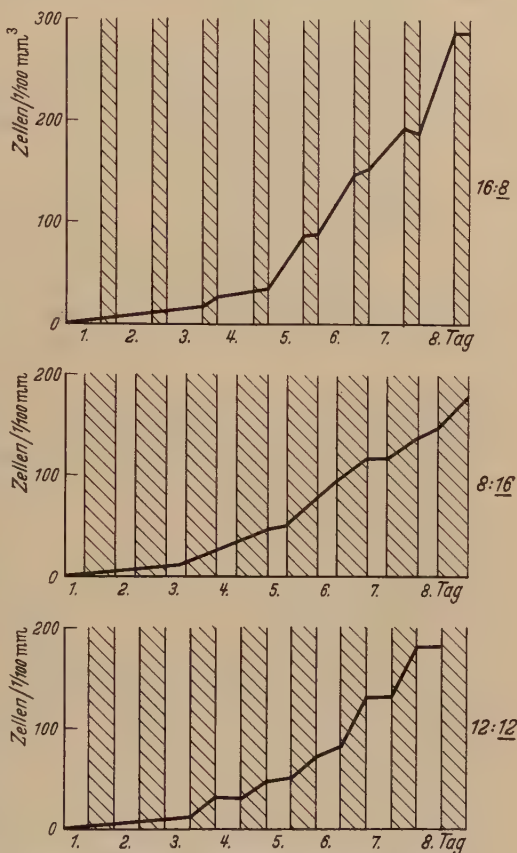


Abb. 8. *Scenedesmus bijugatus* (5). Wachstumskurven (Zelldichte in  $\frac{1}{100} \text{ mm}^3$ ) bei den Beleuchtungsrhythmen 16:8, 8:16, 12:12 Std (Dunkelphasen schraffiert).

im wesentlichen nur während (zu Beginn) der Lichtphase an (untere Kurve)<sup>1</sup>.

Wenn eine Wechselbeziehung zwischen Zellteilungen und Aneurinhalt besteht, etwa derart, daß zur Zeit der Zellteilung eine Erhöhung des Aneurinhaltess stattfindet, wie sie bei den Rhythmen 12:12 oder

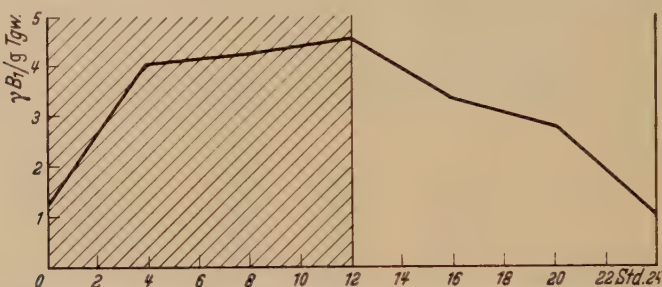


Abb. 9. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneurinhalt innerhalb der je 12stündigen Dunkel- und Lichtphase (17./18. 5. 1949, 7. Tag der Kulturperiode, Messungen alle 4 Std., Dunkelphase schraffiert).

8:16 Std anzunehmen ist, müßte also bei einem Licht/Dunkelwechsel von 16:8 Std der Aneurinhalt während der Lichtphase — entsprechend der zu Beginn der Lichtphase stattfindenden Zellteilungen — zunächst noch ansteigen. Dazu wurde der Verlauf des Aneurinhaltess in kurzen Zeitabständen während der Licht- und Dunkelphase verfolgt.

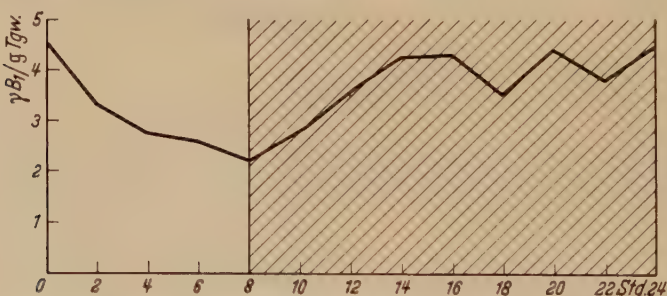


Abb. 10. Wie Abb. 9, jedoch 8:16stündiger Licht/Dunkelwechsel, 4. Tag der Kulturperiode, Messungen alle 2 Std.

Die Kurve (Abb. 9, 24 Std im Rhythmus 12:12 Std) entsprach den Erwartungen. Zunächst rascher, dann weniger steiler Anstieg während der gesamten Dunkelperiode, dann kontinuierlicher Abfall in der Lichtphase. Im Rhythmus 8:16 Std war es ähnlich (Abb. 10).

Aber auch der für die gestellte Frage entscheidende Rhythmus 16:8 Std bot in seinem Kurvenverlauf das gleiche Bild: Abfall während der Licht- und Anstieg in der Dunkelphase (Abb. 11).

<sup>1</sup> V. DENFFER (1948 b) wies an *Nitzschia palea* nach, daß die Zellteilung durch einen täglichen Beleuchtungswechsel rhythmisch gesteuert werden kann.

Daraus kann gefolgert werden, daß zwischen der Rhythmik der Zellteilung und der des Aneurinwechsels keine direkte Be-

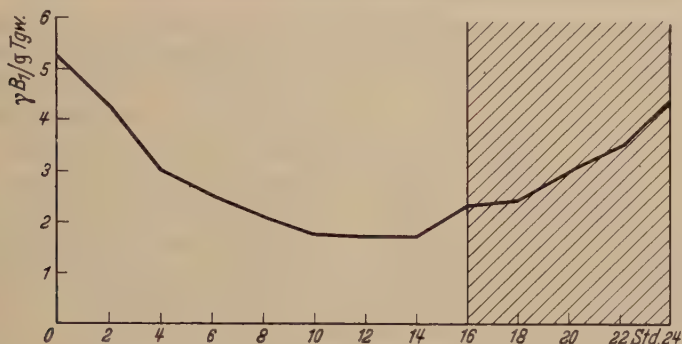


Abb. 11. Wie Abb. 10, jedoch Licht/Dunkelwechsel 16:8 Std.

ziehung besteht. Beide Vorgänge werden von Licht und Dunkelheit gesteuert, aber nicht im gleichen Rhythmus. Es ließ sich also zwischen Zellteilung und Aneurin Gehalt innerhalb eines Tages im Gegensatz zu einer länger währenden Kulturperiode (Kap. B 2b) keine zeitliche Beziehung auffinden.

c) Aneurin Gehalt im Dauerdunkel bzw. Dauerlicht nach Anzucht der Kulturen im Licht/Dunkelwechsel (16:16 u. 12:12 Std.).

Um zu prüfen, ob die vom Licht gesteuerte Rhythmik des täglichen Aneurinwechsels im Dauerdunkel bzw. im Dauerlicht anhält, wie es bei manchen Rhythmen der Fall ist (vgl. z. B. BÜNNING 1948, FLÜGEL 1949, HEIMANN 1950, EHRENBURG 1950), wurden Kulturen im Licht-Dunkelwechsel angezogen und dann in Dauerdunkelheit bzw. Dauerlicht gebracht.

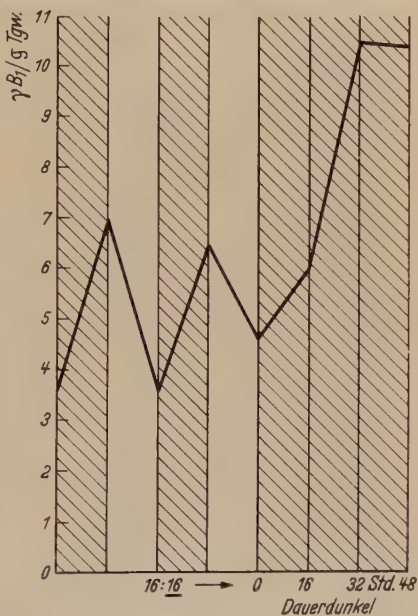


Abb. 12. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneurin Gehalt im Licht/Dunkelwechsel 16:16 Std und anschließend Dauerdunkel (19.-28. 1. 1949, Dunkelphasen schraffiert).

α) Dauerdunkel. Nach 4 maligem Licht/Dunkelwechsel 16:16 Std (also am 7. Tag der Kulturperiode) wurden 3 Rohre verdunkelt und je 1 von ihnen nach 16, 32 und 48 Std Dunkelheit geerntet. Die Aneurinwerte sind in Abb. 12 graphisch dargestellt. Dem normalen Anstieg nach 16stündiger Dunkelheit folgte



im Dauerdunkel ein weiterer sehr starker Anstieg bis zur 32. Std. Nach 48 Std war der Wert unverändert.

In einem anderen Dauerdunkelversuch im Anschluß an einen 8tägigen 12:12stündigen Licht/Dunkelwechsel, stieg der Aneurinegehalt im Laufe

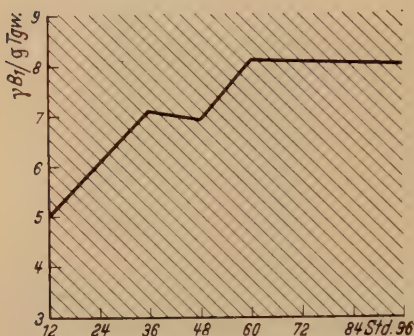


Abb. 13. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneurinegehalt im Dauerdunkel nach vorausgegangener 8tägiger Beleuchtung im Rhythmus 12:12 Std (16.-27. 3. 49.)

von 60 Std an (um  $3 \gamma$ ) und blieb dann bis zur 96. Std konstant (Abb. 13). Um den normalen Verlauf mit Aneurinabnahme in der Lichtphase noch einmal zu demonstrieren, wurde nach den ersten 12 Std Dunkelheit eines der Rohre wieder entdunkelt und 12 Std belichtet; der Aneurinegehalt sank jetzt normal ab ( $3,7 \gamma/g \text{ Tgw.}$ ).

Als in einem späteren Versuch nach 6tägiger Anzucht im Rhythmus 12:12 Std im Dauerdunkel Schwankungen der Aneurinwerte auftraten, die der vorhergegangenen Licht/Dunkel-Rhyth-

mik folgten, wurde es notwendig, mehrere Parallelkulturen getrennt zu ernten und zu testen. Der Inhalt aller Rohre wurde zuletzt vor Beginn der Dauerdunkelheit vermischt. Die Rohre teilte ich in 3 parallele Gruppen ein, von denen je eines im Abstand von 12 Std geerntet wurde. Bis zu 24 Std Dauerdunkel erfolgte gleicherweise ein Anstieg. Danach differierten die Werte derart, daß von einem gleichsinnigen Verhalten der Einzelkulturen nicht gesprochen werden kann (Abb. 14, I, II, III). Außerdem wurden die Mittelwerte (M) errechnet; sie sind mit in Abb. 14 eingetragen. Ihre Kurve scheint tatsächlich einem 12:12stündigen Rhythmus zu entsprechen, was aber schon deshalb nicht zutreffen kann, weil dann alle Phasen um 12 Std verschoben wären; denn in der 12.—24. Std müßte ein Abfall liegen, während die Werte doch in allen drei Gruppen anstiegen. Außerdem wurde aus allen Einzelwerten gemeinsam das arithmetische Mittel ( $4,97$ ) und der mittlere Fehler bestimmt. Letzterer betrug  $\pm 0,19$ . Die Schwankungen im Verlauf der Mittelwertskurve liegen also im Bereich des dreifachen mittleren Fehlers, sie sind somit statistisch nicht gesichert. Absolut gesichert ist nur der Anstieg während der ersten 24 Std Dunkelheit.

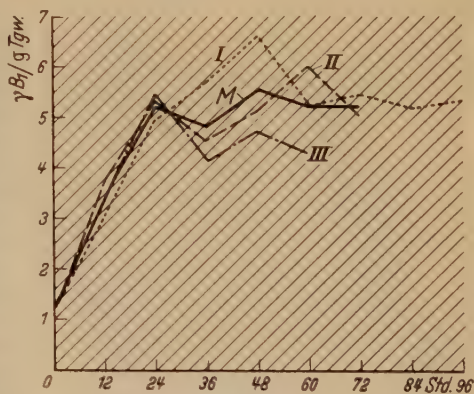


Abb. 14. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneurinegehalt im Dauerdunkel nach vorangegangenem 6tägigem Licht/Dunkelwechsel 12:12 Std (I, II, III Parallelkulturen, M Mittelwerte, 4.—14. 10. 1949).

β) Dauerlicht. Wurden die Kulturen im Anschluß an einen mehrtägigen rhythmischen Licht/Dunkelwechsel in Dauerlicht gebracht, so

sank der Aneuringehalt ab. Wie bei den Versuchen im Dauerdunkel war der Verlauf im Anschluß an den 16:16stündigen Rhythmus besonders steil (Abb. 15).

Nach 12:12 Std (Abb. 16) stieg der Aneurinwert in den zweiten 12 Std wieder etwas an, wobei dieser Anstieg bei der unteren Kurve sogar bis zur 36. Std anhielt. Im ganzen sanken aber beide Kurven bzw. wurden horizontal.

Aus den Versuchen mit Dauerdunkel und Dauerlicht im Anschluß an einen 6—8tägigen Licht/Dunkelrhythmus (die Kulturen befanden sich wahrscheinlich schon in der Speicherphase mit allgemein sinkendem Aneuringehalt, Kap. B 2b) hat sich also ergeben, daß der Aneuringehalt im Dauerdunkel zunächst anstieg, dann — soweit untersucht — auf gleicher Höhe blieb, im Dauerlicht dagegen absank.

Der mit dem Licht/Dunkelwechsel erfolgende tägliche Wechsel im Aneuringehalt wurde im Dauerdunkel bzw. Dauerlicht nicht fortgesetzt. (Der Wiederanstieg im Dauerlicht zwischen der 12. und 24. Std darf wohl nicht als rhythmische Nachschwankung bezeichnet werden.) Doch mußten weitere Versuche angesetzt werden, um das Vorhandensein einer endonomen Rhythmik mit Sicherheit ausschließen zu können.

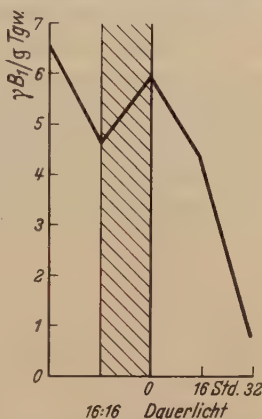


Abb. 15. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneuringehalt im Dauerlicht nach einem 4tägigen Rhythmus 16:16 Std (letzte Dunkelphase schraffiert, 19. bis 28. 1. 1949).

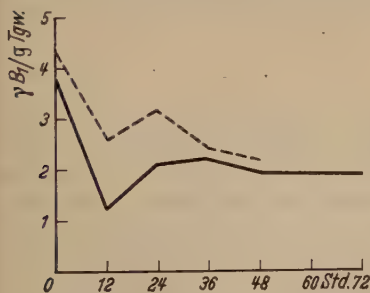


Abb. 16. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneuringehalt im Dauerlicht nach einem 6tägigen Rhythmus 12:12 Std (16.—24. 7. 1949 gestrichelte, 4.—13. 10. 1949 ausgezogene Kurve).

#### d) Aneuringehalt

bei rhythmischer Beleuchtung  
nach Anzucht im Dauerlicht.

Aus Kap. B 2b sowie 3a hat sich ergeben, daß in jungen, rhythmisch belichteten Kulturen der Aneuringehalt anstieg. Das war auch bei Aufzucht im Dauerlicht der Fall (Abb. 17, 72 Std Dauerlicht). Wurden dann Licht/Dunkelwechsel eingeführt (in den Versuchen der Abb. 17 wurde mit 16:16, 16:8 und 8:16 Std gearbeitet), so trat wieder das gewohnte Auf und Ab im

Aneuringehalt ein. Am 2. Tag waren die Unterschiede zwischen den Licht- und Dunkelwerten in allen 3 Gruppen größer als am 1. Tag. Der Aneurinwechsel schien also bei einsetzendem Licht/Dunkelwechsel erst langsam einreguliert und gesteuert zu werden.

### III. Besprechung der Ergebnisse.

Alle Aneurinwerte der untersuchten Algen liegen mit 0,5—10,5  $\gamma$ /g Tgw. durchaus im Bereich der aus der Literatur bekannten Angaben für Pflanzen.

Der Aneuriergehalt einer *Scenedesmus*population zeigte während einer 20tägigen Kulturperiode Anstieg, Maximum und allmählichen Wiederabfall. Einen ähnlichen Verlauf hat auch RYTZ (1939) bei der Keimung von *Pisumsamen* gefunden. Diese Tatsache sowie die Untersuchungsergebnisse an höheren Pflanzen (z. B. HURNI 1944) und die vorstehenden an Süßwasser- und Meeresalgen, wonach junges Material mehr Aneurin enthält als altes, sprechen dafür, daß ganz allgemein die Aneurinsynthese in jungen Zellen zunächst langsam anläuft und ansteigt, um dann mit zunehmendem physiologischem Alter der Zellen wieder abzufallen. Dem

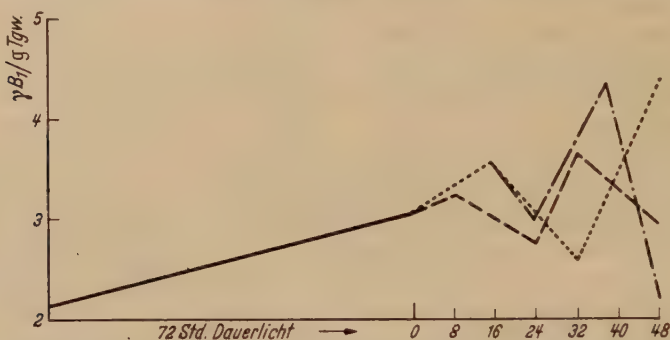


Abb. 17. *Scenedesmus bijugatus* (5). Aneuriergehalt bei 72stündiger Anzucht im Dauerlicht (ausgezogene Kurve) mit anschließender Beleuchtung im Rhythmus 16:16 Std (punktirierte), 16:8 Std (gestrichelte) und 8:16 Std (Strich-Punkt-Kurve). Einsetzen der ersten Dunkelheit ist durch → gekennzeichnet. Danach entspricht jeder Anstieg im Kurvenverlauf einem Dunkelwert, jeder Abfall einem Lichtwert (16.—21. 7. 1949).

fügt sich aufs beste der Befund ein, daß bei derben Tangen der größte Aneuriergehalt in den meristematischen Zonen vorhanden ist<sup>1</sup>. Bei *Scenedesmus* fiel das Maximum der Aneurinkurve ungefähr mit dem Wendepunkt der Kurve der Populationsdichte zusammen, durch den Teilungs- und Speicherphase voneinander getrennt sind; es handelt sich also um einen sehr wesentlichen Wendepunkt im physiologischen Geschehen der Zelle. Da nach PRATT, ONETO und PRATT (1945) an diesem Punkt bei *Chlorella* das Minimum der Chlorellin-Ausschüttung, also eines Hemmstoffes, liegt, scheinen — soweit dieser Analogieschluß gestattet ist, da für *Scenedesmus* keine Hemmstoffuntersuchungen vorliegen —

<sup>1</sup> Bei *Fucus* fällt diese Zone nicht mit der der intensivsten photosynthetischen Tätigkeit zusammen, die nach MOSS (1948) im Rindenparenchym der Schwimmblasenregion liegt. Ob man daraus folgern darf, daß die Aneurinsynthese unabhängig von der Photosynthese erfolgt, sei dahingestellt. Es könnte ja auch ein Antransport von den assimilierenden Zellen zum Meristem stattfinden.



Aneurin- und Hemmstoffproduktion im umgekehrten Verhältnis zueinander zu stehen. (Nach v. DENFFER 1948a, wirkt der Hemmstoff alternder *Diatomeen* wie ein Mitosegift!) Doch darf man sich den Zusammenhang zwischen Aneurinproduktion und Zellteilung nicht einfach vorstellen, was sich schon daraus ergibt, daß die beiden Vorgänge bei *Scenedesmus*kulturen innerhalb des täglichen Licht/Dunkelwechsels nicht im gleichen Rhythmus verliefen.

Aus dem Befund, daß der Aneuringehalt während der Dunkelphase steigt und während der Lichtphase sinkt, läßt sich wohl kaum etwas über die Beziehung der Aneurinsynthese zum Licht sagen. Der naheliegende Gedanke, die Bildung ginge nur im Dunkeln vor sich, wird dadurch entkräftigt, daß ja auch in Kulturen, die von der Beimpfung an Dauerlicht erhielten, Aneurin gebildet wurde. (Der Befund, daß der Aneuringehalt nach einem mehrtägigem Licht/Dunkelrhythmus im Dauerlicht abnahm, steht dazu nicht im Widerspruch bei der Annahme, daß die Kulturen sich bereits in der Speicherphase befanden.) Es ist möglich, daß die im Dauerlicht zeitlich nicht differenzierten Vorgänge der Aneurinsynthese nach Einschaltung von Licht- und Dunkelphasen auf diese verteilt werden, evtl. mit Bevorzugung der Dunkelphase. Warum dann aber der Aneuringehalt während der täglichen Lichtphase nicht gleichblieb, sondern abnahm, bleibt ungeklärt (nach GUSTAFSON, 1948, direkte Zerstörung durch das Licht).

Das Verhalten der Kulturen im Dauerdunkel und Dauerlicht nach mehrtägiger Anzucht im Licht/Dunkelrhythmus spricht gegen die Annahme einer endonomen Tagesrhythmik der Aneurinproduktion.

Die experimentell gefundenen Aneurinschwankungen im Licht/Dunkelwechsel werden verständlich, wenn man sie als Ausdruck für einen Wechsel in der (Ferment-)Aktivität des Aneurins betrachtet.

Man muß annehmen, daß auch in der grünen Pflanze das Aneurin fermentativ in den Stoffwechsel eingreift. (Ein periodischer Wechsel der Fermentaktivität in den Pflanzen ist von verschiedenen Forschern nachgewiesen worden, z. B. EHRENBURG 1950.) Im tierischen Organismus (LEHNARTZ 1947) wirkt das Aneurin in der Hauptsache in pyrophosphatveresterter Form als Co-Carboxylase, daneben unverestert als Dehydrase. Trotz des geringen Prozentsatzes von verestertem Aneurin in der Pflanze (TAUBER 1937) konnte auf seine Wirksamkeit von JAMES und JAMES (1940) durch Anhäufung von Brenztraubensäure nach Carboxylase-Sistierung geschlossen werden. Da der Brenztraubensäureabbau wahrscheinlich über den KREBSSchen Zitronensäurezyklus (LEHNARTZ) erfolgt, und dieser im täglichen Licht/Dunkelwechsel besonders in der Nacht vor sich geht (SIDERIS und Mitarb. 1948), erscheint eine Aktivierung der dafür erforderlichen Co-Carboxylase während der Dunkelheit und ein Abklingen der Aktivität während der Lichtphase verständlich. Davon wird offenbar nicht nur der Pyrophosphatester, sondern das Aneurin als Ganzes betroffen.

Über den Zitronensäurezyklus könnte das Aneurin aber auch mit dem Eiweißstoffwechsel verknüpft sein (z. B.  $\alpha$ -Ketoglutar Säure und Oxalessigsäure als Kohlenhydratgerüst der entsprechenden Aminosäuren Glutamin- und Asparaginsäure). Das scheint insofern von Bedeutung, als zahlreiche Arbeiten SCHOPFERS (z. B. 1937, 1938, 1939) auf eine Korrelation von Aneurin- und Asparaginsäure beim Wachstum von *Phycomyces* hinweisen. PEARSALL und LOOSE (1937, ref. von STEWARD und STREET, 1947) stellten an *Chlorellakulturen* während der Phase des exponen-



tialen Wachstums (= Teilungsphase, durch steigenden Aneuringehalt ausgezeichnet!) eine stärkere Eiweißsynthese fest als in der Folgezeit. Aus diesen Befunden in Verbindung mit den eigenen Ergebnissen ist eine Beziehung des Aneurins zum Eiweißstoffwechsel naheliegend. Sie kann rein energetisch sein (über die biologische Oxydation).

Die beobachtete größere Aneurinmenge während der Dunkelperiode (tägliche Dunkelphase und auch im Dauerdunkel) läßt sich also bei Annahme eines Aktivitätswechsels zugunsten verschiedener im Dunkeln ablaufender chemischer Prozesse durchaus verstehen. Auch der besondere Reichtum an Aneurin in jungen und sich stark teilenden Zellen läßt sich aus der Parallelität zur erhöhten Eiweißsynthese und dem gegenüber älteren Zellen sehr niedrigen C/N-Quotienten (STEWART und STREET 1947) erklären. Mit dem Altern der Zellen und der Umstellung auf die Speicherphase (hoher C/N-Quotient) werden dann die Anforderungen an die fermentative Tätigkeit des Aneurins geringer, und seine Aktivierung kann zurückgehen.

So kann man sich also ein mit den Einzelbeobachtungen dieser Arbeit gut in Einklang zu bringendes Bild des Aneurinwechsels machen.

### Zusammenfassung.

1. Freilandalgen aus dem Süßwasser (6 Arten) und der Nord- und Ostsee (31 Arten) sowie Süßwasseralgen-Reinkulturen (10 *Scenedesmus*-Stämme) wurden auf ihren Aneuringehalt untersucht. Dieser schwankte zwischen 0,3 und 10,5  $\gamma$ /g Tgw., wobei 70% aller Werte zwischen 1 und 6  $\gamma$  lagen (Hauptanteil mit 17,5% zwischen 2 und 3  $\gamma$ ).

2. Bei Freilandmaterial von *Zygnema*, *Spirogyra* und *Cladophora* ergab sich bei Untersuchungen in aufeinanderfolgenden Monaten (Mai bis August) keine Änderung im durchschnittlichen Aneuringehalt.

3. Die Untersuchung verschiedener Entwicklungsstadien (jung/alt, vegetativ/zygotenbildend) sowie verschiedener Regionen von *Laminaria* und *Fucus* zeigte, daß junge Algen und meristematische Gewebe am aneurinreichsten sind.

4. Bei *Fucus* bestand ein regelmäßiges Aneuringefälle von den oberen Thallusgabelungen ab basalwärts.

5. Bei *Scenedesmus bijugatus* stieg im Verlauf einer 20tägigen Kulturperiode (16stündige tägliche Belichtung) der Aneuringehalt zunächst an, erreichte nach 5—9 Tagen ein Maximum und sank danach wieder ab. Dabei fiel das Maximum der Aneurinkurve ungefähr mit dem Wendepunkt der S-Kurve der Populationsdichte zusammen.

6. Anstieg im Aneuringehalt zu Beginn der Kulturperiode wurde auch dann beobachtet, wenn die Kulturen im Dauerlicht heranwuchsen.

7. Im Verlauf eines Tages (Licht/Dunkelwechsel) nahm der Aneuringehalt während der Lichtphase ab und während der Dunkelphase

zu. Eine Beziehung zum Zeitpunkt der Zellteilungen konnte dabei nicht festgestellt werden.

8. Der Aneuringehalt von 6—8 Tage im Licht/Dunkelwechsel angezogenen Kulturen sank im anschließenden Dauerlicht und stieg im Dauerdunkel an (24—60 Std, blieb danach konstant, bis zur 96. Std untersucht).

9. Im Dauerlicht und Dauerdunkel hörte der tägliche Wechsel (Ab- und Zunahme) im Aneuringehalt auf, war aber sofort nachweisbar, wenn nach Dauerlicht rhythmische Belichtung einsetzte. Rückschlüsse auf das Fehlen einer endonomen Rhythmik konnten nicht mit voller Sicherheit gezogen werden.

Herrn Prof. Dr. HARDER danke ich herzlich für die Anregung zu dieser Arbeit und sein stetes Interesse, sowie Herrn Prof. Dr. v. WITSCH für wertvolle Ratschläge.

### Literatur.

- ABDERHALDEN, R.: Vitamine, Hormone, Fermente. Berlin und Wien: Urban & Schwarzenberg 1944. — BERNHARD, K., u. H. ALBRECHT: Helvet. Chim. Acta **30** (1947). — BONNER, J.: Amer. J. Bot. **29**, 136 (1942). — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanzen. Berlin-Göttingen-Heidelberg: Springer 1948. — BURKHOLDER, P. R., and I. McVEIGH: Amer. J. Bot. **27**, 853 (1940). — v. DENFFER, D.: Biol. Zbl. **67**, 7 (1948 a). — Arch. f. Mikrobiol. **14**, 159 (1948 b). — EHRENBERG, M.: Planta **38**, 244 (1950). — FLÜGEL, A.: Planta **37**, 337 (1949). — GUSTAFSON, F. G.: Plant Physiol. **22**, 620 (1947); **23**, 373 (1948). — HARDER, R., u. H. v. WITSCH: Ber. dtsch. bot. Ges. **60**, 146 (1942). — HELMANN, M.: Planta **38**, 157 (1950). — HURNI, H.: Z. Vit.forschung **15** (1944), Diss. Bern; **16**, 69 (1945). — IGGENA, M. L.: Arch. f. Mikrobiol. **9**, 143 (1939). — JAMES, W. O., and G. M. JAMES: New Phytol. **39** (1940), zit. nach Biol. Abstracts **15** (1941). — LEHNARTZ, E.: Einführung in die Chemische Physiologie. Springer 1947. — MOSS, B. L.: Ann. of Bot. **12**, 267 (1948). — NORRIS, EARL R., M. K. Simeon and H. B. WILLIAMS: J. Nutrit. **13**, 425 (1937), zit. nach Ber. Biol. **44**, 234 (1937). — ONDRATSCHEK, K.: Arch. f. Mikrobiol. **11**, 89 (1940); **11**, 239 (1940). — PRATT, R.: Amer. J. Bot. **27**, 52 (1939). — PRATT, R., and J. FONG: Amer. J. Bot. **27**, 431 (1940). — PRATT, R., J. F. ONETO and J. PRATT: Amer. J. Bot. **32**, 406 (1945). — REINHARDT, K.: Arch. f. Mikrobiol. **13**, 301 (1943). — ROBBINS, W. J., and F. KAVANAGH: Proc. nat. Acad. Sci. U.S.A. **23**, 499 (1937); **28**, 4 (1942), zit. nach HURNI, Z. f. Vit.forschung **16**, 69 (1945). — RYTZ, W. Jun.: Ber. Schweiz. Bot. Ges. **49** (1939), Diss. Bern. — SAGROMSKY, H.: Biol. Zbl. **66**, 140 (1947). — SCHOPFER, W. H.: Protoplasma **28**, 381 (1937). — Erg. Biol. **16**, 1 (1939). — SCHOPFER, W. H., u. A. JUNG: Compt. Rend. Acad. Sci. Paris **204**, 1500 (1937). — Z. Vit.forschung **7**, 143 (1938). — SCHOPFER, W. H., et H. UTIGER: Compt. Rend. Soc. de Phys. et d'Hist. Nat. de Genève **58**, 139 (1941). — SIDERIS, C. P., H. Y. YOUNG, and H. H. Q. CHUN: Plant Physiology **23**, 38 (1948). — STEWARD, F. C., and H. E. STREET: Annual Review of Biochemistry **16**, 471 (1947). — TAUBER, H.: Proc. Soc. exp. Biol. a. Med. **37**, 541 (1937). — THREN, R.: Vitamine und Hormone **1**, 100 (1941). — WILSON, K. S.: Amer. J. Bot. **34**, 469 (1947). — v. WITSCH, H.: Naturwiss. **33**, 221 (1946). — Arch. f. Mikrobiol. **14**, 99 (1948 a); **14**, 128 (1948 b). — Biol. Zbl. **67**, 95 (1948 c).

(Aus dem Pflanzenphysiologischen Institut der Universität Göttingen.)

## Historisches zum Vorkommen der Rotalge *Trailiella intricata* (Batters) bei Helgoland.

Von  
WULF KOCH.

(Eingegangen am 10. September 1950.)

*Trailiella intricata* verdient nicht nur wegen ihres heteromorphen Generationswechsels (KOCH, 1950) sondern auch in geographischer Hinsicht besonderes Interesse. Die Alge gehört als Sporophyt zu *Bonnemaïsonia hamifera*, deren voller sexueller Entwicklungsablauf nur aus den ostasiatisch-westamerikanischen Meeren bekannt ist; in den europäischen Gewässern bildet *Bonnemaïsonia hamifera* keine männlichen Geschlechtspflanzen und bleibt daher steril (KOCH, 1950). Die Heimat von *Trailiella intricata* kann daher nur in den japanisch-amerikanischen Gewässern gesucht werden. Im atlantischen Raum und in der Nordsee ist die Alge erst im letzten Jahrzehnt des vorigen Jahrhunderts bekannt geworden (SAUVAGEAU, 1918, ROSENVINGE, 1923/24, WESTBROOK, 1930, LEVRING, 1937, KOCH, 1950). Von ihrem Auftreten an der südenglischen Küste ist erstmals um 1890 berichtet worden, und etwa um 1900 wurde dann ihr Vorkommen in dänischen und skandinavischen Gewässern gemeldet (KYLIN, 1916, ROSENVINGE, 1923/24). Die Alge hat sich also offenbar erst in neuester Zeit im europäischen Küstengebiet ausgebreitet, und noch 1939 hat SUNESON Mitteilung von ihrem weiteren Vordringen entlang der schwedischen Westküste gemacht.

Auch bei Helgoland war die Alge früher unbekannt; das älteste Exemplar von *Trailiella* (ein Einzelstück) des Helgoländer Meeresalgenherbars ist am 20. 8. 1900 von Professor KUCKUCK eingelegt worden. 1916 schreibt KUCKUCK dann aber schon „anfangs eine Seltenheit, jetzt überaus häufig“. Also auch bei Helgoland hat eine rasche Ausbreitung der Alge stattgefunden.

Dabei liegt die Annahme nahe, Helgoland als Zwischenstation auf dem Wege zwischen England und Skandinavien anzusehen. Die Alge ist aber in der Hauptsache auf ganz andere Weise dorthin gekommen, wie uns der langjährige und zuverlässige Algenfischer der Biologischen Anstalt auf Helgoland, Herr PETER KRÜSS, kürzlich brieflich mitgeteilt hat. Danach hat 1906 (das Jahr steht nicht ganz sicher fest) Professor KUCKUCK durch den Forschungsdampfer „Poseidon“ aus Mandal an der Südküste Norwegens eine größere Menge lebender Algen

bekommen, denen *Trailliella intricata* sehr reichlich aufsaß. Nach Bearbeitung des Materials wurden die Algen bei Helgoland ins Meer geworfen, und seitdem ist *Trailliella* in zunehmendem Maße bei Helgoland gewachsen und hat sich dort auf Grund ihrer starken vegetativen Vermehrung einen neuen und bleibenden Standort erobert. Auch Professor HARDER kann sich noch an Gespräche mit Professor KUCKUCK erinnern, in denen erwähnt wurde, daß die rasche dortige Ausbreitung dieses „Unkrauts“ wohl sicher auf diese künstliche „Aussaats“ zurückzuführen ist.

Wesentlich schwieriger wird es sein, heute noch zu klären, wie die Alge kurz vor der Jahrhundertwende aus dem fernen Osten in die europäischen Gewässer gekommen ist.

### Literatur.

HARDER, R., u. W. KOCH: Nature **163**, 106 (1949). — KOCH, W.: Arch. f. Mikrobiol. **14**, 635 (1950). — KUCKUCK, P.: Ref. über H. KYLIN: Z. Bot. **8**, 135 (1916). — KYLIN, H.: Bot. Not., Jahrg. 1916, 83 (1916). — LEVRING, T.: Lunds Univ. Årsskrift N. F. Avd. 2, **33**, No. 8 (1937). — ROSENVINGE, L. K.: Mém. Acad. roy. sc. et lettres de Dannemark. Sect. des sc. sér. 7, **8**, No. 3 (1923/24). — SAUVAGEAU, C.: Bull. de l'institut océanogr. Monaco (1918). — SUNESON, S.: Bot. Not., Jahrg. 1939, 749 (1939). — WESTBROOK, M. A.: J. of Bot. **68**, 257 (1930).



(Aus dem Botanischen Institut der Universität Tübingen.)

## Die Tagesperiodizität der asexuellen Reproduktion von *Pilobolus sphaerosporus*.

Von

ALFRED SCHMIDLE.

Mit 10 Textabbildungen.

(Eingegangen am 16. Oktober 1950.)

Den rhythmischen Erscheinungen der asexuellen Reproduktion bei *Pilobolus* ist in früherer Zeit, im Gegensatz zu anderen Vorgängen an diesem Objekt, nur wenig Aufmerksamkeit geschenkt worden. Ältere Autoren wie COEMANS (1861), KLEIN (1872), BREFELD (1881) und GRÄNTZ (1898) stellten fest, daß das Licht der äußere Faktor ist, der den Lebenszyklus des *Pilobolus* reguliert. Die Periodizität der asexuellen Reproduktion hängt von den täglich wechselnden Perioden von Licht und Dunkelheit ab, sie verschwindet bei Dauerlicht oder dauernder Dunkelheit.

Neuerdings sind zu diesem Problem 2 Arbeiten von McVICKAR (1942) und D. KLEIN (1948) erschienen. McVICKAR kommt auf Grund seiner Versuche an *Pilobolus microsporus* zu dem Ergebnis, daß der Tageszyklus der asexuellen Reproduktion bei *Pilobolus* nicht autonomer Natur ist, sondern nur von Außeneinflüssen, dem Tag- und Nachtwechsel, abhängt.

Die Ergebnisse von KLEIN zeigen, daß die Periodizität der asexuellen Reproduktion bei *Pilobolus kleinii* am größten bei einem Licht-Dunkelwechsel von 16:16<sup>1</sup> Std ist, geringer im 9:15, 12:12 und 15:9stündigen Licht-Dunkelwechsel, während bei 4:4, 8:8, 24:24, 4:20 und 20:4stündigen Wechseln keine Periodizität mehr besteht. KLEIN kommt zum Schluß, aus ihren Experimenten sei nicht ersichtlich, ob die Periodizität bei *Pilobolus* genetisch oder umweltbestimmt bzw., von beiderlei Faktoren gleichzeitig beeinflußt ist.

Die Ergebnisse von KLEIN, wonach die Periodizität der asexuellen Reproduktion nicht bei allen Licht-Dunkelrhythmen gleich stark ist, lassen vermuten, daß neben äußeren auch endonome Faktoren die Periodizität der asexuellen Reproduktion beeinflussen.

Das Ziel der vorliegenden Arbeit ist festzustellen, ob den rhythmischen Erscheinungen der asexuellen Reproduktion bei *Pilobolus* endonome Faktoren zugrunde liegen, ob die Rhythmik nur umweltbestimmt oder ob beide Arten von Einflüssen vorhanden sind.

<sup>1</sup> Die Dunkelperioden wurden jeweils unterstrichen.

## I. Experimenteller Teil.

### A. Material und Methoden.

Zu den vorliegenden Versuchen wurde *Pilobolus sphaerosporus* gewählt, der nach BULLER (1934) und PALLA (1900) bestimmt wurde.

Als Nährmedium diente ein Pferdemitabsud, hergestellt nach der Methode von BERSA (1929): 300 g frischer Pferdemit auf  $\frac{1}{2}$  l dest. Wasser,  $\frac{3}{4}$  Std gekocht. Durch Zusatz von  $\text{Na}_2\text{HPO}_4$  und  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  mit einer endgültigen Konzentration von 1/100 molar wurde dieser zu einem  $\text{pH}$  von 6,5 gepuffert und mit 1,5% Agar verfestigt. Dieser Pferdemitabsudagar (PMA) war tief dunkelbraun gefärbt und bis zu einer Tiefe von 2 mm noch durchsichtig.

Für die Versuche wurden PETRI-Schalen von 6 cm Durchmesser und 2 cm Höhe bis etwa 3—4 mm unter den Rand mit PMA gefüllt. Die Impfung der Agarplatten erfolgte grundsätzlich steril, entweder durch Übertragung von 4—5 Sporangien oder nach der Methode von KRAFCYK (1935), durch Mycelübertragung. Zu diesem Zweck wurden Agarplatten mit steril aufgefundenen Sporangien beimpft und bei 25° C in Dunkelheit gehalten. Nach etwa 2 Tagen konnten aus der Randzone des sich strahlenförmig ausbreitenden Mycels kleine Agarblöckchen herausgeschnitten und mit dem Mycel nach unten auf frische PMA-Platten übertragen werden. Von den aufgesetzten Blöckchen breitete sich das Mycel ebenfalls strahlenförmig aus und hatte meistens nach 2 Tagen den Rand der PETRI-Schale erreicht. Nach dieser Zeit wurden die aufgesetzten Blöckchen wieder abgenommen.

Als Anzeiger der Periodizität diente das Abschießen der Sporangien. Um sie aufzufangen, wurden über die PETRI-Schalen Jenaer Bechergläser (breite Form, 250 cm<sup>3</sup>) gestülpt. Die Sporangien wurden von der Glaswand mit einer zahnärztlichen Sonde entnommen und gezählt. Da die Sporangien an Glas sehr fest haften, mußten die Bechergläser mit Vaseline eingerieben werden.

Der Wechsel der Bechergläser erfolgte 3stündlich Tag und Nacht, verbunden mit einer Temperaturkontrolle solange, bis das Versuchsergebnis klar zu erkennen war.

Die in der Arbeit angeführten Versuche wurden in einem mit Sägemehl (als Isoliermaterial) ausgefüllten Kasten vorgenommen, in dessen Mitte sich ein mit schwarzem Papier ausgeschlagener Pappzylinder befand, in welchem bis zu 6 PETRI-Schalen untergebracht werden konnten. Durch Auflegen eines Schottischen Lichtfilters, BG 21 (3 mm), erfolgte der Ausschluß der ultraroten Strahlung und der Abschluß nach oben (Abb. 1). Eine darüber befindliche 25 W Birne diente sowohl als Licht- wie als Wärmequelle. Die Lichtintensität betrug in Höhe der Kulturen 650 Lux (gemessen mit Dr. LANGES Photozelle, Type S 60), die Temperatur 25°. Ein Spannungsregler (Magnetischer Spannungsregler, Modell LANGE „Fixvolter“), der Stromschwankungen auf  $\pm 0,5$  V reduziert, hielt die Lichtintensität konstant. Die täglichen Temperaturschwankungen in dem Kasten überstiegen  $\frac{1}{2}^\circ$  nicht. Dunkelheit konnte erreicht werden durch Überdecken des Pappzylinders an Stelle des BG 21, entweder mit einer eigens dafür angefertigten Blechhaube oder mit einer beiderseits schwarz bestrichenen und damit lichtundurchlässig gemachten Glasplatte. Die darüber befindliche Lichtquelle wurde dann so tief gestellt, daß die Temperatur von 25° im Innern des Pappzylinders erhalten blieb. Die Dunkel-

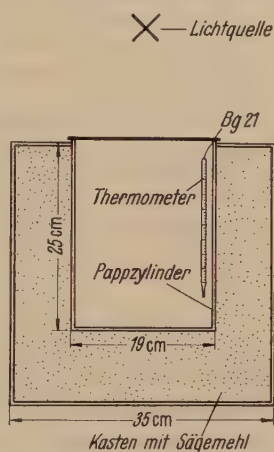


Abb. 1. Versuchsanordnung.

kammer, in der die oben beschriebene Versuchsanordnung untergebracht war, zeigte täglich Temperaturschwankungen von ungefähr  $0,5^\circ$ , in den Wintermonaten ungefähr  $1^\circ$ . Aus Kontrollgründen wurden von jedem Versuch bei Beginn von dauernder Dunkelheit zwei Kulturen abgetrennt und in einen mit Kontaktthermometer versehenen Thermostaten von  $25^\circ \pm 0,3$  gebracht. Diese Temperaturschwankungen kamen hauptsächlich durch den 3stündlichen Wechsel der Bechergläser und das damit verbundene Öffnen des Thermostaten zustande; sie waren aber nicht tagesperiodischer Natur, sondern unregelmäßig. Bei einigen Versuchen waren die Temperaturschwankungen  $\pm 0,4^\circ$ , dabei zeigte sich kein wesentlicher Unterschied zu den im Kasten befindlichen Kulturen.

Zu jedem Versuch sind 4–6 Kulturen verwendet worden, ihre Abschnüsse wurden zusammengezählt und der Mittelwert errechnet. Die Maxima der Sporangienabschnüsse der einzelnen gleichartig behandelten Kulturen trafen zeitlich fast immer zusammen; ab und zu zeigten 1–2 Kulturen das Eintreffen des Maximums 3 Std früher oder später an als die übrigen.

Durch den Wechsel der Bechergläser zeigten sich mit der Zeit Bakterien auf den Kulturen, doch waren diese stets frei von Schimmelpilzen. pH am Ende der Versuche 7,2–7,3.

McVICKAR hatte bereits darauf hingewiesen, was sich durch eigene Versuche bestätigte, daß die Periodizität der asexuellen Reproduktion bei *Pilobolus* nicht an den natürlichen Tag–Nachtwechsel gebunden ist; aus diesen Gründen fand er bei der vorliegenden Arbeit keine Berücksichtigung, sondern es wurde nur mit künstlicher Beleuchtung gearbeitet.

## B. Versuchsergebnisse.

### 1. Vorversuche.

McVICKAR und KLEIN benützten als Maß der rhythmischen asexuellen Reproduktion die An- und Abwesenheit von reifen Fruchttägern. Sie beobachteten 3 Stadien der Sporangiphorenentwicklung: 1. die Periode des Herauskommens der Sporangiphoren aus dem Agar und ihre Verlängerung, 2. die Periode der Sporangienbildung und 3. die Periode der Sporangienreifung.

Die in diesem Abschnitt zu nennenden Versuche wurden durchgeführt, einmal um Vergleichsmöglichkeiten zu weiteren eigenen Versuchen zu haben, zum andern, um festzustellen, ob mit der oben beschriebenen Methode des Messens der Periodizität durch Auffangen der Sporangien eine Übereinstimmung mit den Ergebnissen der Versuche von McVICKAR zu erzielen ist.

a) *Dauerlicht und dauernde Dunkelheit.* Die Kulturen standen von der Sporangienimpfung an im Dauerlicht bzw. in dem von jedem Lichtzutritt abgeschlossenen Thermostaten. Sowohl im Dauerlicht wie in dauernder Dunkelheit ist keine klare Rhythmik des Abschießens der Sporangien zu erkennen (Abb. 2). In dauernder Dunkelheit war das Abschießen der Sporangien gering, nie über 100 Abschnüsse in 3 Std, während in Dauerlicht fast immer über 100 gezählt werden konnten. *Lichteinwirkung fördert das Abschießen der Sporangien und, wie auch beobachtet wurde, die Bildung der Sporangiphoren, während dauernde Dunkel-*

heit hemmend wirkt; beide, Dauerlicht wie dauernde Dunkelheit, verhindern die Periodizität. Die ersten Sporangienabschüsse in dauernder Dunkelheit waren nach ungefähr 4 Tagen, bei Dauerlicht nach 3 Tagen zu beobachten.

b) 12:12 stündige Wechsel von Licht und Dunkelheit. Es wurden Kulturen 12:12stündigen Wechseln von Licht und Dunkelheit ausgesetzt. Die Sporangiphoren reiften in der Dunkelheit heran und schossen in der Lichtphase ihre Sporangien ab. Jeweils 6 Std nach Beginn der Lichtphase war das Maximum erreicht (Abb. 3, linker Teil). Nach ungefähr 9 Std Lichteinwirkung begann die nächste Sporangiphoren-

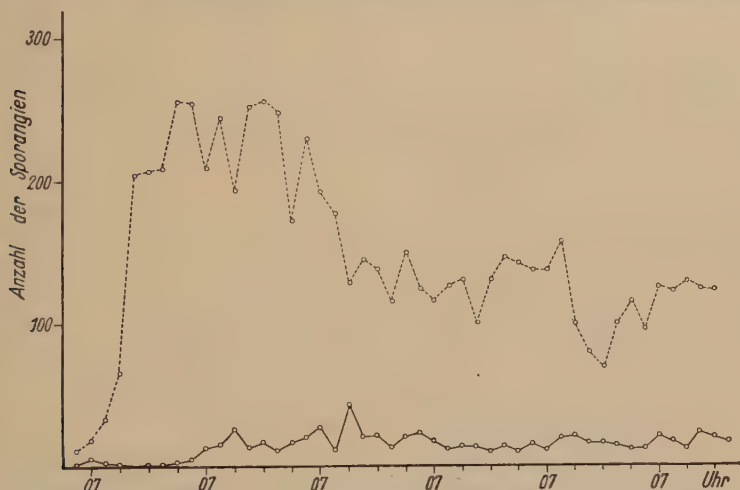


Abb. 2. Kulturen in Dauerlicht (— — —) bzw. Dauerdunkelheit (—). Ordinate: Anzahl der Sporangienabschüsse innerhalb von je 3 Std. Abszisse: die 6tägige Beobachtungszeit.

generation aus dem Agar herauszutreten, um in der Dunkelheit heranzureifen, worauf sich dieser Zyklus wiederholte, solange der 12:12stündige Licht-Dunkelwechsel bestand und genügend Nährstoffe vorhanden waren.

Auch Kulturen, die in Dauerlicht oder dauernder Dunkelheit gestanden hatten, zeigten, wenn sie 12:12stündigen Licht-Dunkelwechseln unterworfen wurden, wieder rhythmisches Abschießen ihrer Sporangien. Das 1. Maximum der Sporangienabschüsse trat 27 Std nach dem Beginn der periodischen Beleuchtung ein. Auf diesen Versuch werden wir später noch näher eingehen.

Die bisherigen Ergebnisse stehen nicht im Gegensatz zu denjenigen von McVICKAR.

c) Dauerlicht nach 12:12stündigen Wechseln von Licht und Dunkelheit. Um einen weiteren Vergleich zwischen den Beobachtungsmethoden von McVICKAR und der vorliegenden Arbeit zu haben, wurde auch der Versuch, Kulturen 12:12stündigen Wechseln von Licht und Dunkelheit auszusetzen und dann dauerndes Licht folgen zu lassen, wiederholt (Abb. 3).



Am 28. 3., 17 Uhr folgte auf die Lichtphase an Stelle der Dunkelheit wiederum Licht. Das nächste Maximum der Sporangienabschüsse lag zeitlich so, als ob der 12:12stündige Licht-Dunkelwechsel weiterhin bestanden hätte. Das Ende der Periodizität trat nach 24 Std ein, von Beginn des zusätzlichen Lichtes an gerechnet. Damit scheint ein Widerspruch zu dem Ergebnis von McVICKAR zu bestehen, wonach die Periodizität nach 12 Std zusätzlicher Beleuchtung verschwindet. Dieser Widerspruch ist durch die verschiedenen Ablesungsmethoden bedingt und läßt sich durch nachfolgende Ausführungen erklären.

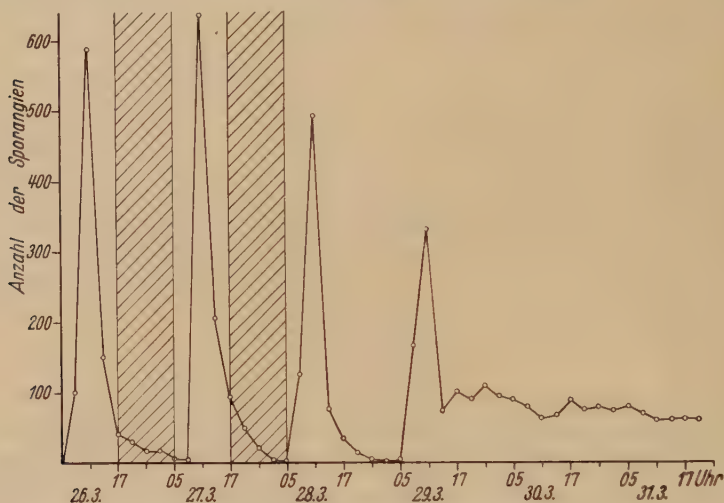


Abb. 3. Dauerlicht nach 12:12stündigen Wechseln von Licht und Dunkelheit. Am 29. 3. — 14 Uhr — Ende des rhythmischen Abschießens der Sporangien.

Wie bereits erwähnt, traten die Sporangioophoren beim 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel in der 2. Hälfte der Lichtphase aus dem Agar heraus, was ungefähr 2 Std nach Dunkelheitsbeginn noch andauern konnte. In der Dunkelheit reiften die Sporangioophoren heran, um im Anfang der folgenden Lichtphasen ihre Sporangien abzuschießen. Durch das zusätzliche Licht an Stelle der Dunkelheit im obigen Versuch hörte aber das Heraustreten der Sporangioophoren aus dem Agar nicht auf, sondern dauerte weiterhin an. Bei Beobachtung nach den ersten 12 Std zusätzlichen Lichtes (am 29. 3., 05 Uhr) ergab sich, daß neben reifen Sporangioophoren, die dann am 29. 3. bis 11 Uhr, also 18 Std seit Beginn der Zusatzbeleuchtung, den Hauptteil ihrer Sporangien abschossen, alle Stadien der Sporangioophorenentwicklung vorhanden waren. In den nächsten Stunden traten, durch die Einwirkung des dauernden Lichtes, laufend neue Sporangioophoren aus dem Agar heraus. Das periodische Abschießen hörte, bedingt durch dieses dauernde Heraustreten der

Sporangiophoren und deren Reifung, bei unserem Versuch nach 24 Std auf. Würde die Ablesungsmethode von McVICKAR für die Beobachtung am 29. 3. — 05 Uhr angewandt, so ergäbe sich, daß, da alle Stadien der Sporangiphorenentwicklung vorhanden sind, schon nach 12 Std keine Periodizität mehr bestehen würde. Bei diesem Versuch trat also zum erstenmal ein Unterschied von 12 Std in den Versuchsergebnissen ein, der in den verschiedenen Beobachtungsmethoden der beiden Arbeiten begründet ist. Es ist notwendig, auf diesen Unterschied hinzuweisen.

Um zu den Schlußfolgerungen von McVICKAR, daß die rhythmischen Erscheinungen bei *Pilobolus* nicht autonomer Natur seien, Stellung nehmen zu können, mußte der Ablauf der Rhythmik in der Dunkelheit unter ausreichend konstanten Bedingungen, nachdem verschiedene Lichteinwirkungen vorangegangen waren, untersucht werden. McVICKAR hatte, wie aus seiner Arbeit ersichtlich, keine Versuche in dieser Richtung unternommen.

## 2. Konstante Dunkelheit nach Licht-Dunkelwechseln von verschiedener Länge.

Dauerlicht nach 12:12stündigen Wechseln von Licht und Dunkelheit unterdrückt, wie wir sahen, schon nach 24 Std das periodische Abschießen der Sporangien. In diesem Abschnitt soll mitgeteilt werden, wie lange das periodische Abschießen anhält, wenn dem Wechsel von Licht und Dunkelheit an Stelle von Dauerlicht dauernde Dunkelheit folgt.

Die Kulturen wurden von der Mycelübertragung an 12:12stündigen Wechseln von Licht und Dunkelheit ausgesetzt, bis 3maliges, dem 12:12-Wechsel angepaßtes Abschießen der Sporangien vor sich gegangen war. In der nachfolgenden Dunkelheit (der 3stündige Wechsel der Bechergläser wurde, wie auch bei den entsprechenden nachfolgenden Versuchen, bei vollständiger Ausschaltung von Licht vorgenommen) lag das nächste Maximum beim ersten Versuch so, als ob der 12:12stündige Licht-Dunkelwechsel weiterhin bestanden hätte, es traf also 18 Std nach der letzten Lichtphase ein. Anschließend waren noch 3 weitere Maxima zu beobachten, und zwar nach 51, 78 und 96 Std. Die weiteren Beobachtungen während der nächsten 3 Tage zeigten kein Ansteigen der Abschüsse mehr. 2 weitere Versuche mit sterilem Pferdemist als Nährmedium hatten ähnliche Ergebnisse. Davon ist der eine in Abb. 4 dargestellt. Die Maxima der Sporangienabschüsse lagen bei 15, 48, 69, 93 und 123 bzw. 15, 48, 69, 96 und 120 Std nach Beendigung der Lichteinwirkung. Die Abschüsse nahmen zahlenmäßig von Maximum zu Maximum ab, das rhythmische Abschießen verliert sich. Ein der Dunkelheit vorangegangener 15:15stündiger Licht-Dunkelwechsel zeigte annähernd dieselben Ergebnisse (Abb. 4).

In 2 weiteren Versuchen wurden nun kürzere Licht-Dunkelperioden gewählt, und zwar 6:6 und 3:9stündige Wechsel. Bei 6:6stündigen

Licht-Dunkelwechseln (die Kulturen schossen 4mal im Licht), fiel, nachdem sich die Kulturen auf diesen Wechsel eingestellt hatten, das Maximum der Sporangienabschüsse immer in die ersten 3 Std der Lichtphase; doch war die Rhythmik nicht so stark ausgeprägt wie im 12:12 oder 15:15stündigen Licht-Dunkelwechsel. In der nachfolgenden Dunkelheit (Abb. 5) erschien das erste Maximum nicht etwa, wie in den voran-

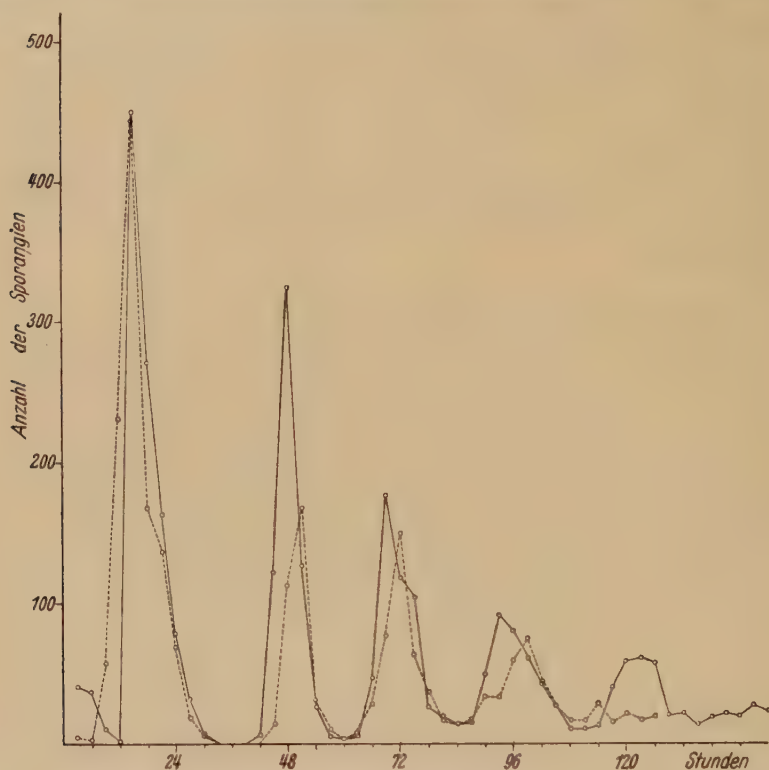


Abb. 4. Dunkelheit nach 12:12stündigen Licht-Dunkelwechseln (—): Nährmedium steriler Pferdemist. Dunkelheit nach 15:15stündigen Licht-Dunkelwechseln (---). — Die Kurven geben den Verlauf des Abschießens der Sporangien in der Dunkelheit nach der letzten Lichteinwirkung, d. h. die Abszisse 0 entspricht dem Beginn der konstanten Dunkelheit.

gegangenen Versuchen nach 15 Std, sondern schon nach 9 Std, lag also zeitlich so, als ob der 6:6stündige Wechsel weiterhin bestehen würde; es folgten die weiteren Maxima nach 18, 48, 72, 99 und 126 Std.

Gingen der Dunkelheit 3:9stündige Licht-Dunkelwechsel voraus, so erschien das erste Maximum schon nach 6 Std, das zweite nach 21, die weiteren nach 48, 72 und 99 ↓ Std (↓ = unter 50 Abschüsse).

Diese letzten Versuche sind von besonderer Wichtigkeit. Sie zeigen, daß eine kurz-periodisch induzierte Rhythmik in nachfolgender Dunkelheit

nicht beibehalten wird, sondern sich ein Übergang in eine angenäherte 24stündige Periodizität vollzieht. Die ersten beiden Maxima in der Dunkelheit nach den 6:6 und 3:9stündigen sowie die ersten Maxima in der Dunkelheit nach den 12:12 und 15:15stündigen Wechseln, müssen noch durch irgendwelche Prozesse, die direkt von den Licht-Dunkelwechseln herrühren, beeinflusst sein.

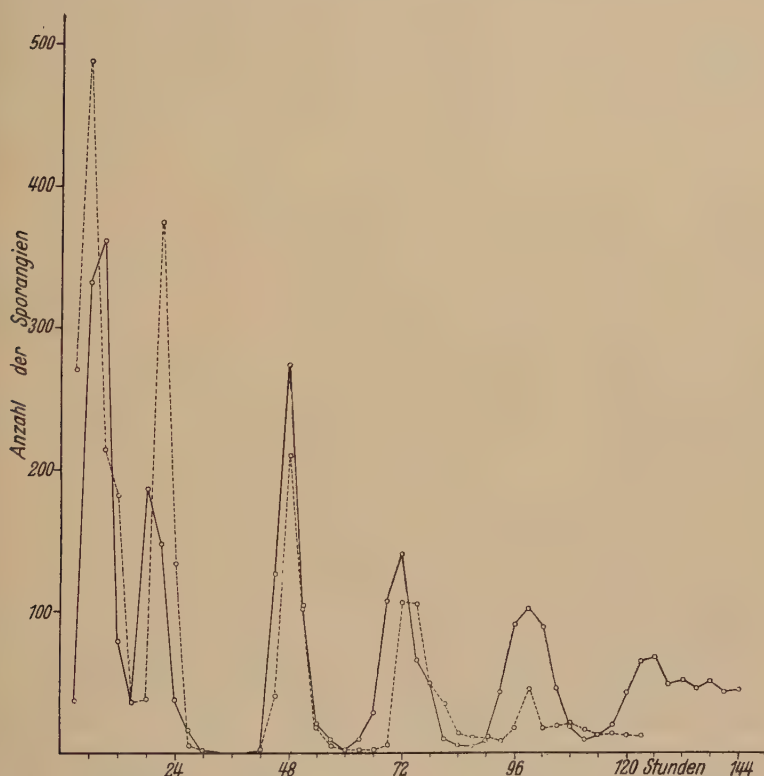


Abb. 5. Dunkelheit nach 6:6 (—) und 3:9 (---) stündigen Licht-Dunkelwechseln. — Die Kurven geben den Verlauf des Abschießens der Sporangien in der Dunkelheit nach der letzten Lichteinwirkung, d. h. die Abszisse 0 entspricht dem Beginn der konstanten Dunkelheit.

Eine Abhängigkeit der Rhythmik von dem in dieser Arbeit gewählten spez. Nährmedium besteht nicht, da die Versuche mit sterilem Pferdemist als Nährmedium annähernd dieselben Ergebnisse zeigten.

### 3. Konstante Dunkelheit nach Dauerlicht von verschiedener Länge.

Die unter 2 angeführten Versuche hatten gezeigt, daß das periodische Abschießen der Sporangien bei Dunkelheit trotz der verschiedenartigen vorausgegangenen Licht- und Dunkelheitszyklen immer in eine angenäherte 24stündige Rhythmik übergeht, um allmählich auszuklingen.



Daher lag es nahe zu versuchen, ob derselbe Effekt durch der Dunkelheit vorangehendes Dauerlicht, also durch einen einmaligen Licht-Dunkelwechsel, erzielbar ist.

Dazu wurden 6 Agarplatten nach der Mycelübertragung dauerndem Licht ausgesetzt. Nach 3 Tagen waren die am weitesten entwickelten Sporangiphoren im Reifungsstadium, aber auch alle anderen Entwick-

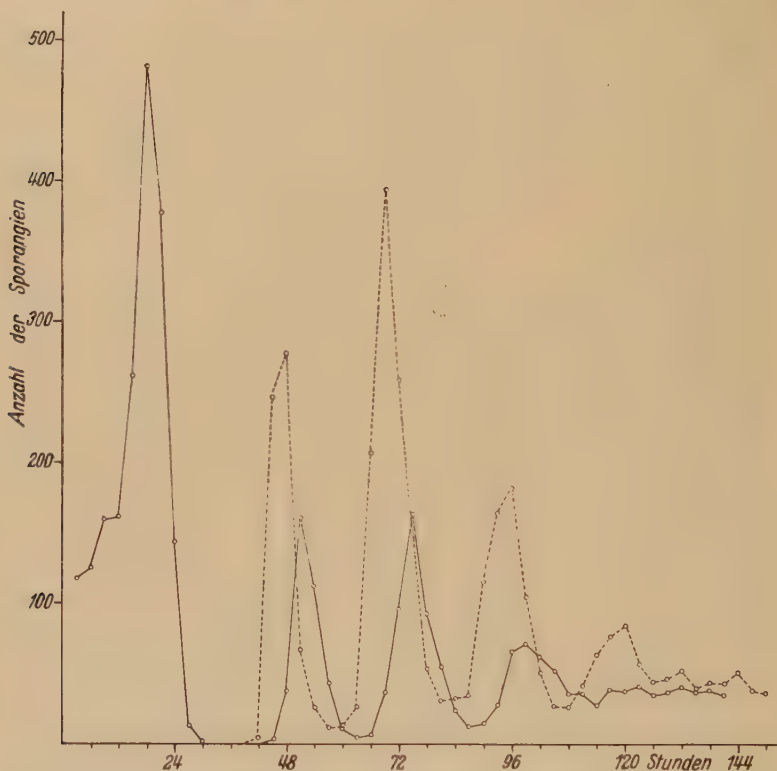


Abb. 6. Dunkelheit nach 3 tägigem (—) und 2 1/4 tägigem (---) Dauerlicht. — Die Kurven geben den Verlauf des Abschießens der Sporangien in der Dunkelheit nach der letzten Lichteinwirkung, d. h. die Abszisse 0 entspricht dem Beginn der konstanten Dunkelheit.

lungsstadien waren vorhanden. Das Verhalten in der auf das 3 tägige Dauerlicht folgenden Dunkelheit ist in Abb. 6 dargestellt. Die Maxima lagen bei 18, 51, 75 und 99 Std. Die Rhythmik des Sporangienabschießens hielt ungefähr 108 Std an, um sich dann zu verlieren. Die Periodizität war, vom ersten Maximum abgesehen, dessen Lage durch das vorausgehende Dauerlicht bedingt sein muß, ungefähr 24stündig. Wurde die Lichteinwirkung auf 2 1/4 Tage verkürzt, so daß die Kulturen beim Übergang in die Dunkelheit gerade im Stadium der Trophocytenbildung

waren, so traten die Maxima der Sporangienabschüsse nach 48, 69, 96 und 120 Std ein, folgten also wiederum fast einer 24stündigen Periodizität (Abb. 6).

Bei einer weiteren Verkürzung des Lichtes auf  $1\frac{1}{2}$  Tage, wobei nicht festzustellen war, ob beim Übergang zur Dunkelheit sich schon Trophocysten gebildet hatten, trafen die Maxima 66, 87 und 111 Std nach Dunkelheitsbeginn ein, während bei einer Lichteinwirkung von  $\frac{1}{2}$  Tag keine klare Rhythmik mehr zu erkennen war (Abb. 7). Die Anzahl der Abschüsse war geringer (man beachte den verkleinerten Maßstab). Der Übergang von einer gerade noch erkennbaren Periodizität lag bei

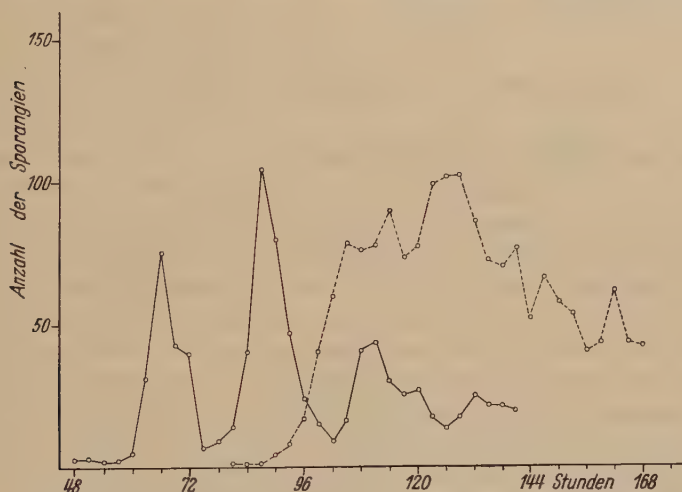


Abb. 7. Dunkelheit nach  $1\frac{1}{2}$  tägigem (—) und  $\frac{1}{2}$  tägigem (---) Dauerlicht. Beim letztgenannten Versuch ist keine klare Rhythmik mehr zu erkennen. — Die Kurven geben den Verlauf des Abschießens der Sporangien in der Dunkelheit nach dem Ende der letzten Lichteinwirkung.

einer Lichteinwirkung von 1 Tag, wobei Maxima bei 78 und 87 Std auftraten. Bei 1stündiger Beleuchtung waren die Verhältnisse wie in dauernder Dunkelheit. Weitere noch angestellte Versuche sind aus Tab. 1 zu entnehmen, die gleichzeitig die anderen Experimente dieser Reihe auführt.

Aus den vorliegenden Versuchen geht klar hervor, daß ein einmaliger Licht-Dunkelwechsel genügt, um in der nachfolgenden Dunkelheit periodisches Abschießen der Sporangien zu veranlassen. Das erste Maximum fällt aus der 24stündigen Periodizität heraus, die Sporangienreifung muß wohl durch das vorausgegangene Licht direkt beeinflußt worden sein; dieses Maximum stellt einen Übergang zu der in der Dunkelheit sich vollziehenden Rhythmik her. Wird die Lichteinwirkung zu stark verkürzt, so tritt die Periodizität schwächer oder nicht mehr in Erscheinung. Eine Abhängigkeit von der Dauer der Lichteinwirkung ist damit festgestellt.

Tabelle 1. *Konstante Dunkelheit nach Lichteinwirkung von verschiedener Länge.*

Lichteinwirkung	Auftreten der Maxima in Stunden nach Beginn der Dunkelheit				
	1.	2.	3.	4.	5. Maximum
1 Std . . . . .	—	—	—	—	—
1/2 Tag . . . . .	—	—	—	—	—
1 „ . . . . .	—	—	78	87	—
1 1/2 Tage . . . . .	—	—	66	87	111
2 1/4 „ . . . . .	—	48	69	96	120
2 1/2 „ . . . . .	18	51	75	—	—
3 „ . . . . .	18	51	75	99	—
4 „ (Impfung mit Sporen) . . . . .	15	51	72	99	—
4 Tage . . . . .	6—18	51	78	102	—
4 1/2 „ . . . . .	21	48	72	99	—
5 „ + 16 Std . . . . .	12	48	72	—	—

4. *Konstante Dunkelheit nach Lichteinwirkung von verschiedener Länge auf Kulturen, die kein rhythmisches Abschießen ihrer Sporangien mehr zeigten.*

Mit dieser Versuchsreihe wird festgelegt, wie lange eine einmalige Lichteinwirkung notwendig ist, um Kulturen, bei denen kein periodisches Abschießen der Sporangien mehr zu beobachten war, zu einer erneuten Periodizität zu veranlassen. Hierzu fanden Kulturen Verwendung, die bereits in früheren Versuchen benützt worden waren und während der auf sie einwirkenden Dunkelheit das periodische Abschießen ihrer Sporangien verloren hatten. Sie waren alle 8 Tage alt. Bei einer Untersuchung der Agarplatten nach diesem Zeitpunkt konnte festgestellt werden, daß in einer Schicht von ungefähr 2—3 mm unter der Oberfläche Hunderte von Trophocysten eingebettet waren. Nach ihrer Herauspräparation aus dem Agar und mikroskopischer Untersuchung war zu sehen, daß sie alle kürzere oder längere, teilweise auch noch keine Auswüchse zu Sporangiphoren hatten. Das bedeutet also, daß die Trophocysten in der Dunkelheit weiter gebildet wurden, aber infolge Lichtmangels oder Fehlens eines anderen auslösenden Reizes ein Auswachsen zu Sporangiphoren nicht erfolgen kann.

Solche Kulturen wurden den in der Tab. 2 angeführten Lichteinwirkungen unterworfen. Bei 3—18stündigen Lichteinwirkungen bildete sich während der nachfolgenden Dunkelheit, in der teilweise noch bis zu 120 Std beobachtet wurde, nur ein einziges Maximum aus; meistens hörte nach 1 oder 2 Tagen das Abschießen der Sporangien überhaupt auf. Wurde die Lichteinwirkung auf 21 Std erhöht, so trat nach 6 Std Dunkelheit, wie aus der Tab. 2 zu ersehen ist, das erste Maximum ein; nach 51 Std war eine geringe Anzahl von Sporangien zu bemerken, je Kultur nicht über 10, nach 72 Std etwas mehr; ihre Anzahl war aber nicht über 40 in 3 Std. Bei einer weiteren Verlängerung des Lichtes

auf 24 Std fingen die Kulturen noch während der Lichteinwirkung an zu schießen, um 3 Std nach Dunkelheitsbeginn ihr Maximum an Abschüssen zu erreichen. Die weiteren Maxima folgen nach 51 und 75 Std, sie waren niedriger als das erste Maximum, aber wesentlich höher als bei 21 Std Lichteinwirkung und entsprachen den bei den bereits erwähnten Versuchen gefundenen.

Die ersten Maxima der Sporangienabschüsse sämtlicher Versuche waren außerordentlich hoch, bei den Versuchen mit 21 und 24 Std Lichteinwirkung waren es innerhalb von 3 Std über 3000 Abschüsse je Kultur. Jedoch waren diese Sporangien sehr klein, ihre Größe betrug nur  $\frac{1}{4}$  der Sporangien in anderen Versuchen.

Tabelle 2. Konstante Dunkelheit nach Lichteinwirkung von verschiedener Länge bei Kulturen, die kein rhythmisches Abschießen ihrer Sporangien mehr zeigten.

Lichteinwirkung.	Auftreten der Maxima in Stunden nach Beginn der Dunkelheit bzw. (in Klammern) nach Beginn der Lichtphase		
	1.	2.	3. Maximum
3 Std . . . . .	24 (27)	—	—
6 Std . . . . .	21 (27)	—	—
9 Std . . . . .	18 (27)	—	—
12 Std . . . . .	18 (30)	—	—
15 Std . . . . .	15 (30)	—	—
18 Std . . . . .	9 (27)	—	—
21 Std . . . . .	6 (27)	51 ↓ <sup>2</sup>	72 ↓
24 Std . . . . .	3 (27)	51	75

<sup>2</sup> Der Pfeil bedeutet: unter 50 Abschüsse.

Eine 3stündige Lichteinwirkung auf Kulturen, die 8 Tage alt sind, genügte also, um die in der vorausgehenden Dunkelheit gebildeten Trophocysten zum Auswachsen zu veranlassen. Die formative Ausbildung war nicht normal, wohl weil es dem Mycel unmöglich war für die vielen zu Sporangiphoren auswachsenden Trophocysten genügend Aufbaustoffe heranzuschaffen. Mindestens 21—24 Std Licht sind notwendig, um wieder periodisches Abschießen der Sporangien hervorzurufen. Inwieweit noch kürzere Lichteinwirkungen als 3 Std genügen, um die in der Dunkelheit gebildeten Trophocysten zum Auswachsen zu Sporangiphoren zu veranlassen, wurde nicht untersucht. Es sei aber an dieser Stelle auf Versuche von GRÄNTZ (1898) hingewiesen, dem es gelang, im Dunkeln etioliierte Fruchträger von *Pilobolus microsporus* — die einzige *Pilobolus*-Spezies, deren Fruchträger im Dunkeln steril bleiben — durch  $\frac{1}{4}$ stündige Beleuchtung zur Köpfchenbildung zu veranlassen; bei einzelnen Individuen genügten schon Lichteinwirkungen von 5 min.



Unbekannt bleibt, an welcher Stelle der Entwicklung des *Pilobolus* das Licht einwirkte, um nach dem ersten Maximum die weiteren Periodizitäten zu veranlassen. Wachsen alle in der Dunkelheit gebildeten Trophocysten nach dem Lichtreiz sofort zu Sporangioophoren aus oder tritt bei diesem Auswachsen eine zeitliche Verschiedenheit auf, wodurch das folgende Abschießen der Sporangien zustande kommt? Ist eine

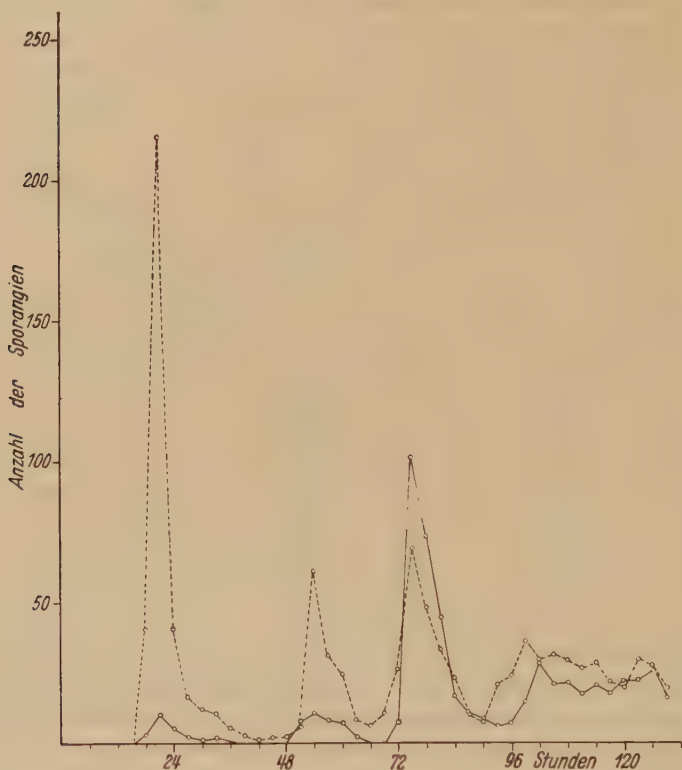


Abb. 8. 2 Tage Dunkelheit, 9 Std Licht, dann Dunkelheit (—). 2½ Tage Dunkelheit, 6 Std Licht, dann Dunkelheit (— —). — Die Kurven geben den Verlauf des Abschießens der Sporangien in der Dunkelheit nach der letzten Lichteinwirkung, d. h. die Abszisse 0 entspricht dem Beginn der konstanten Dunkelheit.

Lichteinwirkung auf das Mycel vorhanden? GRÄNTZ fand das Mycel von *Pilobolus microsporus* lichtunempfindlich, ebenso BREFELD. Werden erst bei einer Lichteinwirkung von 24 Std Prozesse möglich, die das rhythmische Abschießen der Sporangien ermöglichen? In der vorliegenden Arbeit kann auf diese Fragen keine Antwort gegeben werden, doch soll der nächste Abschnitt zeigen, daß auch kürzere Lichteinwirkungen als 24 Std genügen, um periodisches Abschießen der Sporangien hervorzurufen.

5. 2 bzw.  $2\frac{1}{2}$  Tage Dunkelheit, dann Licht und dann wieder konstante Dunkelheit.

Kulturen, die von der Mycelübertragung an 2 bzw.  $2\frac{1}{2}$  Tage in Dunkelheit gestanden hatten, wurden verschiedenen langen Lichteinwirkungen ausgesetzt, auf die wieder konstante Dunkelheit folgte. Nach 2 Tagen Dunkelheit hatte das Mycel gerade den Rand der PETRISchale erreicht und befand sich im Zustand frischer Wüchsigkeit. Trophocysten waren im Kulturmedium noch nicht feststellbar.

Den Ablauf des periodischen Abschießens der Sporangien in Dunkelheit von Kulturen, die nach 2 Tagen Dunkelheit 9 Std Licht ausgesetzt

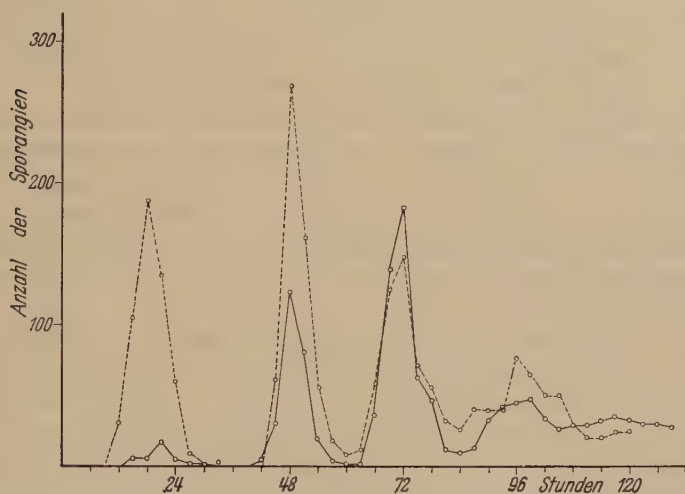


Abb. 9. 2 Tage Dunkelheit, 12 Std (—) bzw. 18 Std (---) Licht, dann Dunkelheit. — Die Kurven geben den Verlauf des Abschießens der Sporangien in der Dunkelheit nach der letzten Lichteinwirkung, d. h. die Abszisse 0 entspricht dem Beginn der konstanten Dunkelheit.

wurden, zeigt die Abb. 8. Bei 21 und 54 Std seit Ende der Lichteinwirkung waren einige Sporangienabschüsse festzustellen, bei 75 Std waren es wesentlich mehr, bei 102 Std nochmals ein feststellbarer Anstieg, hierauf unregelmäßiges Schießen. Bei Erhöhung der Lichteinwirkung auf 12 Std (Abb. 9) trat nun das zweite Maximum stärker hervor, das dritte lag noch über dem zweiten. Bei weiterer Erhöhung der Lichteinwirkung auf 18 Std (Abb. 9) trat auch das erste Maximum stärker hervor, wurde aber vom zweiten noch übertroffen. Dasselbe Bild ergab sich bei einer 21stündigen Lichteinwirkung, wo die Maxima in der Dunkelheit bei 21, 48 und 72 Std erschienen.

Die hier angeführten Versuche zeigten wiederum eine angenäherte 24stündige Periodizität im Abschießen der Sporangien. Es ist zu bemerken, daß das erste Maximum nicht mehr so starke zeitliche Ab-

weichungen von der 24stündigen Periodizität aufwies, wie bei den unter 2 und 3 angeführten Versuchen. Vor allem war die Lichteinwirkung kürzer, rhythmisches Abschießen ließ sich trotzdem erzielen. Die Versuche mit 9 und 12 Std Lichteinwirkung weisen darauf hin, daß diese nicht beliebig verkürzt werden kann, um die nötigen Prozesse, die die Rhythmik bedingen, hervorzurufen. Wahrscheinlich dürften schon 15 Std genügen (der Versuch wurde nicht durchgeführt), um auch das erste Maximum voll in Erscheinung treten zu lassen.

Wird die Dunkelheit, in der das Mycel heranwächst, von 2 auf 2½ Tage erhöht, dafür die Lichteinwirkung auf 6 Std erniedrigt, so genügt auch diese Lichteinwirkung, um rhythmisches Abschießen der Sporangien hervorzurufen (Abb. 8). Hier ist nun folgendes zu beachten: nach der 2½ Tage dauernden Dunkelheit hatten sich schon Trophocysten gebildet, die nicht auswachsen konnten. Die 6stündige Lichteinwirkung genügte, um das Auswachsen dieser Trophocysten zu Sporangiphoren zu veranlassen, und sie genügte ebenso, um noch weiteres rhythmisches Abschießen von Sporangien hervorzurufen. Die starke Ausprägung des ersten Maximums, das nach 21 Std erschien, erklärt sich aus den in der Dunkelheit gebildeten Trophocysten und steht in Übereinstimmung mit dem entsprechenden Versuch der Tab. 2. Die weiteren Maxima lagen bei 54, 75 und 99 Std.

Damit dürfte gezeigt sein, daß schon kürzere Lichteinwirkungen genügen, um rhythmisches Abschießen der Sporangien hervorzurufen, wobei es nicht gleichgültig ist, ob die Kulturen 8 Tage oder 2 bzw. 2½ Tage alt sind, wenn die Lichteinwirkung erfolgt. Es besteht also Abhängigkeit von der Länge der Lichteinwirkung, die in der Höhe der einzelnen Maxima der Sporangienabschüsse zum Ausdruck kommt, wie auch vom Entwicklungszustand der Kulturen (Alter), in dem das Licht einwirkt.

#### 6. 12:12stündige Wechsel von Licht und Dunkelheit nach dauernder Dunkelheit.

Eingangs wurde schon erwähnt, daß Kulturen, die in der Dunkelheit keine Periodizität mehr zeigten, 12:12stündigem Licht-Dunkelwechsel ausgesetzt, das periodische Abschießen ihrer Sporangien wieder aufnahmen. Im folgenden wurden 2 Versuche unternommen. Sie zeigten beide das erste Maximum 27 Std nach Beginn der Lichteinwirkung; es fiel in die zweite Lichtphase, und zwar 3 Std nach deren Beginn. Das weitere periodische Abschießen der Sporangien richtete sich dann nach dem 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel und stellte sich immer 6 Std nach Lichtbeginn ein. McVICKAR erwähnt, daß nach Dunkelheit, der ein 12:12stündiger Licht-Dunkelwechsel folgte, die Rhythmik der asexuellen Reproduktion nach 24 Std wieder erreicht wird. Vorliegendes

Ergebnis stimmt damit überein. Weiterhin zeigte sich, daß das erste Maximum durch das Auswachsen der schon vorhandenen, in der Dunkelheit gebildeten Trophocysten zustande kam, es ist außerordentlich hoch im Vergleich zu den folgenden Maxima. Entsprechendes dürfte für den Versuch von McVICKAR gelten. Für die weiterhin auftretenden Maxima dürfte die zweite 12stündige Lichtphase von Bedeutung sein, so daß auch hier 24 Std Licht notwendig waren, um Periodizität hervorzurufen, die aber nicht auf einmal gegeben werden müssen, sondern von 12 Std Dunkelheit unterbrochen sein können. Ob die Periodizität auch mit einer kürzeren zweiten Lichteinwirkung erreicht werden kann, wurde nicht untersucht.

7. *Durch Temperatureinwirkungen hervorgerufenes rhythmisches Abschießen der Sporangien bei völliger Dunkelheit.*

Zufällige stärkere Temperaturschwankungen bei einigen Versuchen ließen erkennen, daß diese nicht ohne Einfluß auf die rhythmischen Erscheinungen bei *Pilobolus* sind.

Kulturen, nach der Mycelübertragung in Dunkelheit gebracht, wurden 12:12stündigem Wechsel von 21° und 25° unterworfen. Nach etwa 4 Tagen waren die ersten Sporangienabschüsse zu bemerken. Das Abschießen der Sporangien erfolgte so, daß 3 oder 6 Std nach Beginn der Phase von 25° ein Maximum sich einstellte. Während der Phase von 21° waren kaum noch Abschüsse zu bemerken. Die Rhythmik richtete sich also nach dem Temperaturwechsel.

Nach 3maligem Auftreten eines Maximums in 12:12stündigem Temperaturwechsel wurden die Kulturen bei 25° belassen und weiter beobachtet (Abb. 10). Von Beginn dieser 25° an gerechnet, lagen die Maxima bei 6, 27, 54, 81 und 108 Std. Das erste Maximum erschien zur normalen Zeit des 12:12stündigen Temperaturwechsels, 6 Std nach Beginn der 25° C-Phase, anschließend bildete sich eine 27stündige Periodizität heraus. Die Sporangien waren fast normal ausgebildet, zahlenmäßig entsprach der 12:12stündige Temperaturwechsel etwa dem 12:12 stündigen Licht-Dunkelwechsel. Es muß aber erwähnt werden, daß Vorversuche ungünstiger ausfielen; der zeitliche Ablauf der Rhythmik bei 25° entsprach nach vorangegangenen Temperaturwechseln zwar vollkommen dem vorerwähnten Versuch, die Sporangien waren aber sehr klein und blieben zahlenmäßig hinter denen des oben geschilderten Versuchs zurück.

Auch eine einmalige Temperaturerhöhung bei Kulturen, die in 21° und vollständiger Dunkelheit 5 Tage heranwuchsen, auf 25° — wobei diese Temperatur dann beibehalten wurde — führte zu rhythmischem Abschießen der Sporangien. Das erste Maximum trat nach 27 Std ein,



als weitere folgten 48 und 72 Std nach Beginn der höheren Temperatur. Hier mußte der Versuch aus technischen Gründen abgebrochen werden.

Licht ist also nicht der einzige Faktor, der die rhythmischen Erscheinungen bei *Pilobolus sphaerosporus* veranlassen kann. Mit Temperaturänderungen lassen sich ähnliche Ergebnisse erzielen.

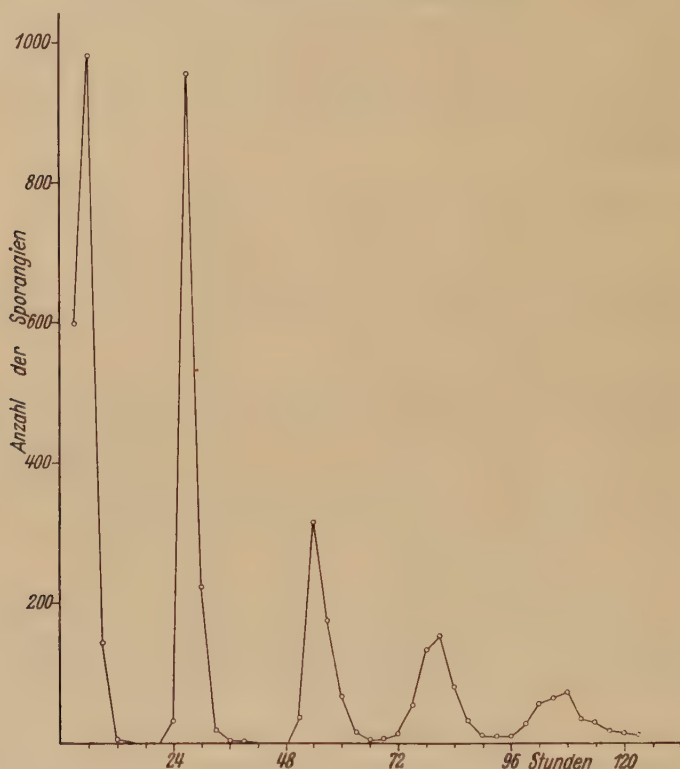


Abb. 10. Rhythmisches Abschießen der Sporangien bei 25° nach 12:12stündigen Wechseln von 21° auf 25°. Die Kulturen haben keine Lichteinwirkung erhalten.

### Besprechung der Ergebnisse.

Aus den vorliegenden Untersuchungen geht hervor, daß bei Dauerlicht und dauernder Dunkelheit unter den gewählten Versuchsbedingungen kein periodisches Abschießen der Sporangien zu erkennen ist; demgegenüber geht nach Lichteinwirkungen verschiedener Art in der darauf folgenden Dunkelheit unter sonst gleichen Versuchsbedingungen das Abschießen der Sporangien immer in einen angenähert 24stündigen Rhythmus über, der langsam ausklingt. Bis die 24stündige Periodizität erreicht ist, können sich mehr oder weniger ausgeprägte Übergangsreaktionen bemerkbar machen, die besonders deutlich in Erscheinung

treten, wenn der Dunkelheit kurzperiodische Licht-Dunkelwechsel von 6:6 und 3:9 Std vorhergehen. Auch Temperaturwechsel ohne Lichteinwirkung vermögen rhythmisches Abschießen der Sporangien hervorzurufen, bei anschließender Temperaturkonstanz tritt eine 27stündige Periodizität auf.

Es erhebt sich die Frage, welche Faktoren für diese periodischen Erscheinungen in der Dunkelheit verantwortlich zu machen sind. Man könnte zunächst die in den Versuchen vorhandenen geringen Temperaturschwankungen von weniger als  $0,5^{\circ}$  als Ursache der in der Dunkelheit sich vollziehenden 24stündigen Rhythmik ansehen. Aus der Tatsache, daß bei den Versuchen mit dauernder Dunkelheit sowie 1stündiger und  $\frac{1}{2}$ tägiger Lichteinwirkung mit nachfolgender Dunkelheit, bei gleichen Temperaturverhältnissen wie in den übrigen Versuchen, kein periodisches Abschießen der Sporangien vorhanden war, muß gefolgert werden, daß diese geringen Temperaturschwankungen die Rhythmik nicht bedingen. Auch hätten die bei jedem Versuch in den Thermostaten verbrachten 2 Kulturen abweichende Ergebnisse zeitigen müssen, da hier die Temperaturschwankungen nicht tagesperiodischer Natur waren. Endlich entsprach weder der zeitliche Verlauf der geringfügigen Temperaturschwankungen noch deren Periodenlänge dem Verlauf und der Periodenlänge der festgestellten Rhythmen im Sporangienabschuß.

Für diese in der Dunkelheit auftretenden Erscheinungen einen im Tagesrhythmus schwingenden äußeren Faktor im Sinne STOPPELS (1940) — also elektrischer Natur — anzunehmen, entfällt ebenfalls, weil die auftretenden Maxima des periodischen Abschießens der Sporangien nicht an eine bestimmte Ortszeit des Beobachtungsortes gebunden, sondern von ihr vollkommen unabhängig waren. Durch entsprechendes zeitliches Ansetzen der Versuche konnten die Maxima in jede Tages- oder Nachtzeit verlegt werden, entscheidend für ihr Auftreten war nur der Dunkelheitsbeginn.

Nach dem Vorangegangenen bleibt nur noch übrig, für die Periodizität des *Pilobolus sphaerosporus* endonome Faktoren verantwortlich zu machen. Diese endonomen Faktoren müssen aber durch äußere Faktoren angestoßen werden (BÜNNING, 1932). Ein einmaliger Licht-Dunkelwechsel oder während der Dunkelheit eine einmalige Lichteinwirkung von 6—21 Std genügten, um Rhythmen in Erscheinung treten zu lassen, die sich teilweise über 4 Tage erstrecken. Periodisches Abschießen der Sporangien, das sich z. B. 6:6stündigen Licht-Dunkelwechseln angepaßt hatte, wird in nachfolgender Dunkelheit nicht beibehalten, sondern geht ebenfalls in einen angenäherten 24stündigen Rhythmus über. Daß Temperaturwechsel ohne Lichteinwirkung dieselben periodischen Erscheinungen hervorrufen kann, ist ein Beweis mehr. Nach BÜNNING (1943, 1948) kann auch bei höheren Pflanzen die endonome Tages-

rhythmik sowohl vom Licht, als auch von Temperaturwirkungen gesteuert werden.

Betont werden muß noch, daß auch die eindeutigen Abweichungen um mehrere Stunden von der genauen 24stündigen Periodizität deutlich den endogenen Charakter demonstrieren.

Mit der Annahme, daß die periodischen Erscheinungen bei *Pilobolus* sowohl durch Außenfaktoren — Licht und Temperatur — als auch durch endonome Bedingungen veranlaßt werden, erscheinen auch die Ergebnisse von KLEIN verständlich. Bei 16:16stündigen Licht-Dunkelwechseln erreichte KLEIN die größte Periodizität der asexuellen Reproduktion bei *Pilobolus Kleinii*. Das könnte heißen, daß bei diesen gebotenen Licht-Dunkelwechseln die endonomen Faktoren am besten zur Auswirkung kommen konnten. Bei längeren oder kürzeren Licht-Dunkelzyklen wirken die äußeren und inneren Faktoren gegeneinander, und die Erscheinungen der Periodizität treten nicht oder in schwächerem Maße auf. Zwischen *Pilobolus Kleinii* und dem in diesen Versuchen verwendeten *Pilobolus sphaerosporus* könnten selbstverständlich Unterschiede bestehen.

Es war ja auch gerade die von KLEIN festgestellte Tatsache, daß *Pilobolus* einen bestimmten Licht-Dunkel-Rhythmus „vorzieht“, die uns zur Vermutung der Beteiligung einer endogenen Rhythmik führte.

Der von McVICKAR gezogene Schluß, die Periodizität sei nicht autonomer Natur, war verfrüht. An seinen Versuchen wird aber deutlich, daß die Außenfaktoren viel stärker wirken als die inneren und diese weitgehend überlagern, man sie also nur unter geeigneten Versuchsbedingungen studieren kann. Es fragt sich aber, ob McVICKAR überhaupt diese Versuchsbedingungen anwenden konnte, da er *Pilobolus microsporus* benützte (nach D. KLEIN allerdings *P. roridus*!), der nach BREFFELD und GRÄNTZ in der Dunkelheit keine Sporangien bildet, sondern stark etioliert.

Somit dürften die bei *Pilobolus sphaerosporus* gewonnenen Ergebnisse der rhythmischen asexuellen Reproduktion an die schon seit längerem bekannten endonom bedingten tagesperiodischen Prozesse, wie sie vor allem durch die Untersuchungen von PEEFFER, STOPPEL, KNIEP, KLEINHOONTE und BÜNNING bei Chlorophyllpflanzen bekannt wurden, anzureihen sein. Damit soll natürlich keineswegs gesagt sein, daß die zwischen Reiz- und Endreaktion ablaufenden Prozesse dieselben sind wie bei Chlorophyllpflanzen. STOPPEL (1940) und BÜNNING (1942) haben bei grünen Pflanzen eine Abhängigkeit der Tagesrhythmik von Chlorophyll und Chromatophorenzustand festgestellt. Mit den vorliegenden Ergebnissen ist gezeigt, daß es auch endonom bedingte tagesperiodische Prozesse gibt, die nicht an die Anwesenheit von Chlorophyll gebunden sind. Festzustellen, welche Vorgänge von dem die endonomen Faktoren auslösenden Reiz bis zum periodischen Abschießen der Sporangien sich



vollziehen, muß weiteren Arbeiten überlassen bleiben; ebenso, ob die Aufnahme des Reizes durch das Carotin oder andere Stoffe vor sich geht oder ob eine direkte Wirkung auf das Protoplasma vorliegt.

Ein Vergleich mit den bei höheren Pflanzen gefundenen Gesetzmäßigkeiten in der Regulierung der endogenen Tagesrhythmik durch äußere Faktoren (vgl. FLÜGEL und die dort zitierte Literatur) ergibt sehr weitgehende Parallelen. So wird die Vermutung gestützt, daß die endogene Rhythmik bei Pilzen ähnlicher physiologischer Natur ist wie bei höheren Pflanzen. Gerade darum wird der Befund, daß Chlorophyll nicht notwendig ist, für die Diskussion über die endogene Rhythmik wichtig.

Welche Bedeutung den von McVICKAR beobachteten Plasmabewegungen in den Sporangiphoren bei verschiedenen *Pilobolus*-Spezies hinsichtlich der endonomen Rhythmik zukommt, bleibt ebenfalls noch offen.

### Zusammenfassung.

1. Dauerlicht und dauernde Dunkelheit verhindern periodisches Abschießen der Sporangien bei Kulturen von *Pilobolus sphaerosporus*.

2. Werden Kulturen 12:12stündigen Wechseln von Licht und Dunkelheit ausgesetzt, so schießen sie ihre Sporangien periodisch ab, wobei jeweils 6 Std nach Beginn der Lichtphase ein Maximum an Sporangienabschüssen eintritt. Bei Überführung dieser Kulturen in Dauerlicht ist nach 24 Std die Periodizität beendet. Kulturen, die in der Dunkelheit ihre Rhythmik verloren haben und dann 12:12stündigen Licht-Dunkelwechseln ausgesetzt werden, zeigen wieder periodisches Abschießen der Sporangien, das dem 12:12stündigen Licht-Dunkelwechsel folgt. Das erste Maximum wird 27 Std nach Beginn der ersten neuen Lichteinwirkung erreicht.

3. Kulturen, die 12:12, 15:15, 6:6 und 3:9stündigen Licht-Dunkelwechseln ausgesetzt waren, schießen ihre Sporangien in der darauffolgenden Dunkelheit in einem angenähert 24stündigen Rhythmus ab. Dabei zeigen sich Übergangsreaktionen, die von den vorangegangenen Licht-Dunkelwechseln abhängen. Versuche mit sterilem Pferdemist als Nährmedium hatten ähnliche Ergebnisse.

4. Werden Kulturen, die Dauerlicht von verschiedener Länge ausgesetzt waren, in dauernde Dunkelheit gebracht, so geht das Abschießen der Sporangien wiederum in einen angenähert 24stündigen Rhythmus über.

5. 24 Std Licht sind notwendig, um Kulturen, die 8 Tage alt sind und kein rhythmisches Abschießen ihrer Sporangien mehr zeigten, zur erneuten Periodizität zu veranlassen.

6. Bei Lichteinwirkungen von 9, 12, 18 und 21 Std auf Kulturen, die 2 Tage in der Dunkelheit seit der Mycelübertragung gestanden hatten, wird in der nachfolgenden Dunkelheit ebenfalls eine angenähert 24stündige Rhythmik im Abschießen der Sporangien erreicht. Wird die



Dunkelheit auf  $2\frac{1}{2}$  Tage erhöht, die Lichteinwirkung auf 6 Std erniedrigt, so genügt auch diese Lichteinwirkung, um die genannten periodischen Erscheinungen hervorzurufen. Es besteht Abhängigkeit von der Länge der Lichteinwirkung, die in der Höhe der einzelnen Maxima der Sporangienabschüsse zum Ausdruck kommt, wie auch vom Entwicklungszustand der Kulturen.

7. Die Periodizität bei *Pilobolus sphaerosporus* kann auch durch Temperatureinwirkungen ausgelöst werden.

8. Aus den Versuchsergebnissen wird der Schluß gezogen, daß die rhythmischen Erscheinungen der asexuellen Reproduktion, beobachtet am periodischen Abschießen der Sporangien, im Zusammenwirken von äußeren und inneren Faktoren entstehen.

Herrn Prof. Dr. BÜNNING bin ich für die Überlassung der Arbeit und deren fördernde Unterstützung sehr zu Dank verbunden. Weiterhin danke ich Fräulein Dr. SAGROMSKY für mannigfache Ratschläge.

### Literatur.

- BERSA, E.: Kultur und Ernährungsphysiologie der Gattung *Pilobolus*. Sitzgsber. Akad. Wiss. Wien, Math.-naturwiss. Kl. Abt. 1, **139**, 355 (1929). — BREFELD, O.: Botanische Untersuchungen über Schimmelpilze, Vol. 4, 60. Leipzig: Arthur Felix 1881. — BÜNNING, E.: Entwicklungs- und Bewegungsphysiologie der Pflanzen. Berlin: Springer 1948. — Die Anpassung der Pflanzen an den jahres- und tagesperiodischen Wechsel der Außenbedingungen. Naturw. **31**, 493 (1943). — Untersuchungen über den physiologischen Mechanismus der endogenen Tagesrhythmik bei Pflanzen. Z. Bot. **37**, 433 (1942). — Untersuchungen über die autonomen tagesperiodischen Bewegungen der Primärblätter von *Phaseolus multiflorus*. Pringsheim Jb. Bot. **75**, 439 (1932). — BULLER, A. H. R.: Researches on Fungi, Vol. 6. New York: Longmans, Green & Co. 1934. — COEMANS, E.: Monographie du genre *Pilobolus*. Mém. cour. et des sav. étrang. Acad. roy. de Belge **30**, 1 (1861). — FLÜGEL, A.: Die Gesetzmäßigkeiten der endogenen Tagesrhythmik. Planta (Berl.) **37**, 337 (1949). — GRÄNTZ, F.: Über den Einfluß des Lichtes auf die Entwicklung einiger Pilze. Dissertation Leipzig 1898. — KLEIN, D.: Influence of varying periods of light and dark on asexual reproduction of *Pilobolus kleinii*. Bot. Gaz. **110**, 139 (1948). — KLEIN, J.: Zur Kenntnis des *Pilobolus*. Jb. Bot. **8**, 305 (1872). — KLEINHOONTE, A.: Untersuchungen über die autonomen Bewegungen der Primärblätter von *Canavalia ensiformis*. Jb. Bot. **75**, 679 (1932). — KRAFCYK, H.: Die Bildung und Keimung der Zygosporen von *Pilobolus cristallinus* und sein heterocaryotisches Mycel. Beitr. Biol. Pflanz. **23**, 349 (1935). — McVICKAR, D. L.: The light controlled diurnal rhythm of asexual reproduction in *Pilobolus*. Amer. J. Bot. **29**, 372 (1942). — PALLA, E.: Zur Kenntnis der *Pilobolus*-Arten. Österr. bot. Z. **50**, 349 (1900). — PFEFFER, W.: Untersuchungen über die Entstehung der Schlafbewegungen der Blattorgane. Abh. sächs. Akad. Wiss., Math.-phys. Kl. **30**, 259 (1907). — Beiträge zur Kenntnis der Entstehung der Schlafbewegungen. Abh. sächs. Akad. Wiss., Math.-phys. Kl. **34**, 3 (1915). — STOPPEL, R.: Einfluß des Chlorophylls auf die Schlafbewegungen der Bohnenblätter und eine Analyse der Bewegungen. Planta (Berl.) **30**, 695 (1940). — Über die Bewegungen der Blätter von *Phaseolus multiflorus* bei Konstanz der Außenbedingungen. Ber. dtsh. bot. Ges. **30**, 29 (1912). — Über den Einfluß des Lichtes auf das Öffnen und Schließen einiger Blüten. Z. Bot. **2**, 369 (1910).

## Aufnahmebedingungen.

Die Arbeit muß dem Gebiet der Zeitschrift angehören und wissenschaftlich Neues bringen. Arbeiten, die ausschließlich praktischen Zwecken dienen, scheiden aus.

Das Manuskript muß leicht leserlich geschrieben und völlig druckfertig sein; andernfalls sind Verzögerungen im Erscheinen unvermeidlich. Korrekturen im Satz müssen auf das sachlich Notwendige beschränkt werden.

Die Darstellung soll möglichst kurz sein. Ergebnisse dürfen nicht gleichzeitig in Tabellen- und Kurvenform dargestellt werden.

Die Abbildungen sind auf das Notwendigste zu beschränken, insbesondere die Reproduktion von Photos.

Bei einleitenden Literaturbesprechungen soll möglichst auf zusammenfassende Darstellungen verwiesen und nur das zum unmittelbaren Verständnis Notwendige gebracht werden.

Selbständige kritische Sammelreferate über einzelne Gebiete sind erwünscht.

Der Arbeit ist eine Zusammenfassung der wichtigsten Ergebnisse im Umfang von im allgemeinen höchstens 1 Seite anzufügen.

## Lebensmitteltechnologie

Einführung in die Verfahrenstechnik der Lebensmittelverarbeitung

Von

Dr.-Ing. habil. **Rudolf Heiss**

Dozent, Direktor des Instituts für Lebensmitteltechnologie München

Mit 223 Textabbildungen. VIII, 344 Seiten. 1950.

DM 27.60; Ganzleinen DM 29.70

### Inhaltsübersicht:

I. Verfahrenstechnische Grundprozesse in der Lebensmittelindustrie. — II. Herstellungsverfahren, bei welchen mechanische Prozesse überwiegen. — III. Herstellungsverfahren, bei welchen thermische Prozesse überwiegen, insbesondere durch Trennung der gasförmigen von der flüssigen Phase. — IV. Biochemische Technologie. — Sachverzeichnis.

J. F. BERGMANN-VERLAG · MÜNCHEN



# Handbuch der experimentellen Pharmakologie

Begründet von **A. Heffter**

**Ergänzungswerk**

Herausgegeben von

**W. Heubner**

und

**J. Schüller**

Professor der Pharmakologie an der Universität  
Berlin

Professor der Pharmakologie an der Universität  
Köln

Zehnter Band

## Die Pharmakologie anorganischer Anionen Die Hofmeistersche Reihe

Von

Professor Dr. **Oskar Eichler**

Direktor des Pharmakologischen Instituts der ehem. Universität Breslau, z. Zt. Heidelberg,  
Chirurgische Klinik

Mit 94 Abbildungen. XX, 1206 Seiten. 1950. DM 186.—

### Inhaltsübersicht:

Vorkommen. Chemie. Komplexverbindungen. Physikalische Chemie. Katalyse, Fermente und Fermentsysteme. Wirkung bei Einzellern. Beeinflussung von Pflanzen und pflanzlichen Geweben. Vergiftungsverlauf und Dosierungen. Aufnahme der Anionen in den Organismus. Ausscheidung. Beeinflussung spezieller Organe und Organsysteme durch Anionen. Mangelhafte und übermäßige Anwesenheit von Chlorid in Nahrung und Organismus. Mangel und Überschuß an Phosphat. Chronische Vergiftung mit Fluoriden. Gegengiftwirkungen. Abschluß. Autoren- und Sachverzeichnis.

## Statistische Urteilsbildung

Erläutert an Beispielen aus Medizin und Biologie

Von

**H. Gebelein**

und

**H.-J. Heite**

Dozent Dr. phil. habil.,  
Landshut (Bayern)

Dr. med., wissenschaftlicher Assistent  
an der Univ.-Hautklinik Münster i. Westf.

Mit einem Geleitwort von

**C. Moncorps**

Professor Dr. med., Direktor der Hautklinik der Westfälischen Landesuniversität Münster

Mit 50 Textabbildungen und 20 Beispielen. XVI, 192 Seiten. 1951. DM 15.60

**SPRINGER-VERLAG / BERLIN · GÖTTINGEN · HEIDELBERG**

Diesem Heft liegen 2 Prospekte des Springer-Verlages, Berlin · Göttingen · Heidelberg, bei.

Springer-Verlag, Berlin · Göttingen · Heidelberg. — Druck der Wiesbadener Graphische Betriebe GmbH. — Printed in Germany.